

INCIDENCIA DE SEROCONVERSIÓN A *Brucella abortus* EN HATOS LECHEROS DE MICHOACÁN, MÉXICO

Incidence of Seroconversion to *Brucella abortus* in Dairy Herds of Michoacan, Mexico

José Luis Solorio Rivera ¹, José Candelario Segura-Correa ^{2,*} y Laura Guadalupe Sánchez-Gil ¹

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Acueducto x Tzintzuntzan. Morelia, Michoacán, México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km 15,5 carretera Mérida-Xmatkuil. Mérida, Yucatán, México.

*Correspondencia Tel.: +52 9999423200; fax: +52 9999423205; E-mail: segura52@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue estimar la incidencia de seroconversión a *Brucella abortus* e identificar factores de riesgo asociados en hatos lecheros de Michoacán, México, utilizando técnicas de análisis de sobrevivencia. El estudio longitudinal se realizó de diciembre 2001 a noviembre 2002. Los animales fueron monitoreados mensualmente por 12 meses, mediante la presencia de anticuerpos. Los datos sobre factores de riesgo potenciales fueron obtenidos de entrevistas. Los factores de riesgo fueron: tamaño de hato (2-9; 10-25 y 26-55 animales), estado serológico del hato (seropositivo o seronegativo), sexo (machos o hembras), grupo de edad (6-12; 13-24; 25-48 y 49-132 meses de edad) y origen del animal (nacido en el rancho, comprado). Las incidencias acumulada y verdadera fueron 2,34% y $1,97 \times 1000$ animales-mes a riesgo, respectivamente. En el modelo proporcional de Cox, el riesgo de seroconversión fue 8,5 veces mayor para un animal en un hato seropositivo en comparación con un animal en un hato seronegativo. La razón de riesgo (RR) fue menor para los animales en el grupo de edad más joven (6-12 meses) y mayor para los animales en el grupo de edad de 13 a 24 meses (RR = 9,05). En conclusión, la incidencia de seroconversión a brucelosis fue relativamente baja, la cual fue afectada por el estado serológico del hato y grupo de edad.

Palabras clave: Brucelosis, incidencia, factores de riesgo, trópico, México.

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the incidence of seroconversion to *Brucella abortus* and to identify associated risk factors in dairy herds of Michoacan, Mexico, using survival analysis techniques. The longitudinal study ran from December 2001 to November 2002. Animals were tested monthly for 12 months, for the presence of antibodies. Data on potential risk factors were obtained from interviews. Risk factors were: herd size (2-9; 10-25 and 26-55 animals), herd serostatus (seropositive or seronegative), sex (male, female), age group (6-12; 13-24; 25-48 and 49-132 months of age), and animal origin (born in farm, purchased). The cumulative incidences and the incidence density rates were 2.34% and 1.97×1000 animal-months at risk, respectively. In the Cox proportional-hazard model, the risk of seroconversion was 8.65 times greater for an animal in a seropositive herd than for an animal in a seronegative herd. The risk ratio (RR) was lowest for the animals in the youngest age group (6-12 months) and highest for the 13-24 month old age group (RR = 9.05). In conclusion, the incidence of seroconversion to brucellosis was relatively low; which was associated with herd serostatus and age group.

Key words: Brucellosis, incidence, risk factors, tropics, Mexico.

INTRODUCCIÓN

El análisis de sobrevivencia es un procedimiento estadístico que considera el tiempo que un individuo contribuye al estudio; es una técnica para datos censurados que permite a los investigadores analizar datos incompletos debido al retraso en la entrada o retiro temprano de individuos [2].

La brucelosis es la zoonosis más distribuida en el mundo, la cual tiene un impacto económico importante sobre la industria ganadera y en la salud pública. Esta enfermedad reduce el volumen de producción de leche y carne en los animales y aumenta los costos de producción, así como los días no trabajados y costos de hospitalización en los humanos [3, 17]. La brucelosis afecta principalmente el sistema reproductivo de los animales, causando pérdidas directas a los sistemas de producción ganaderos debido a los abortos, infertilidad, reducción de reemplazos, reducción de producción de leche y muerte de becerros [11]. El género *Brucella* incluye tres especies importantes para la patología humana: *B. melitensis* que afecta preferentemente a cabras (*Capras hircus*), pero que puede afectar a bovinos (*Bos taurus-indicus*) y cerdos (*Sus scrofa domestica*); *B. abortus* que es la principal responsable de la brucelosis bovina y *B. suis* en cerdos. Los animales infectados diseminan la bacteria a través de sus excreciones, productos de aborto, secreciones vaginales y leche. La transmisión a los humanos puede ser a través del consumo de leche o sus derivados procedentes de animales infectados o por contacto directo con los animales [14, 17]. La brucelosis se considera endémica en todo México y existe un programa de control que cubre todo el país. Este incluye la cuarentena de importaciones, control de movilización, muestreos voluntarios y vacunación [9].

Entre los factores importantes que contribuyen a la incidencia y distribución de la brucelosis entre y dentro de hatos se mencionan: el sistema de producción, el tamaño del hato, la densidad animal, la falta de higiene en el corral, el tener bovinos y pequeños rumiantes en el rancho, el movimiento no controlado de animales, el pastoreo comunal y el mezclado de animales entre hatos [7, 8, 12].

El objetivo del presente estudio fue estimar la incidencia de seroconversión para brucelosis bovina e identificar los factores de riesgo asociados utilizando la metodología de análisis de sobrevivencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y clima

El estudio se realizó en las localidades de Cotzío y Tejaró, Michoacán, México. El clima de la región es templado con lluvias en verano. La máxima precipitación ocurre en julio (1.060 mm³) con un promedio de 772 mm³ y un mínimo de 487 mm³ en enero. Los promedios anuales de humedad relativa y temperatura son 56,6% y 17,7°C, respectivamente [5]. Cotzío y Tejaró están localizados cerca de Morelia, la capital del estado de Michoacán, los cuales son importantes lugares para la producción de leche dentro del valle Morelia-Queréndaro. La producción de leche es practicada por familias rurales de bajo estrato socio económico y ocupa el segundo lugar como actividad económica en la región, con un inventario de 154 hatos y 3.180 vacas aproximadamente. Los hatos son pequeños (2-55 animales) con animales principalmente de la raza Holstein.

Las vacas son mantenidas en establos construidos de tabiques o concreto, sin piso o con pisos de concreto. Las vacas eran ordeñadas a mano, dos veces al día, con una producción de aproximadamente 14,8 litros/vaca y alimentadas con alfalfa (*Medicago sativa*) fresca y rastrojo de maíz (*Zea mays*) en los meses de escasez de pasto (abril y mayo). Los animales se reproducían principalmente por monta natural. La profilaxis no era una práctica común en la región; sin embargo, la vacunación cuando se hacía era principalmente contra la rabia, pasteurellosis y carbón sintomático.

Diseño y población de estudio

En el año 2.000 se realizó un estudio transversal utilizando 62 hatos seleccionados para estimar la prevalencia y factores de riesgo asociados a brucelosis [16]. Posteriormente, todos los animales seronegativos de los 62 hatos evaluados fueron incluidos en un estudio prospectivo realizado de diciembre 2001 a noviembre del 2002. Los animales seronegativos, mayores de seis meses en cada hato, fueron muestreados por 12 meses por la presencia de anticuerpos. Se consideró como evento a un animal que seroconvirtió durante el periodo. Los animales fueron identificados individualmente en la oreja con aretes numerados. El estado serológico de los animales a riesgo se consideró como un indicador de infección, porque la vacunación contra esta enfermedad no se practicaba en la región. Se obtuvo información de los factores de riesgo tales como: tamaño de hato, estado serológico del hato, edad, sexo y origen de los animales, del estudio de prevalencia y de las visitas mensuales, para los animales de nuevo ingreso. La población a riesgo al inicio del estudio fueron todos los animales seronegativos de los 62 hatos (n=889 animales). El número total de animales (n=993) y hatos para cada nivel de los factores de riesgo se presentan en la segunda columna de la TABLA I. El tamaño de hato se definió como el número de animales en el hato (positivos o negativos) al inicio del estudio. El estado serológico del hato se refiere a un hato con dos o más animales seropositivos, basado en los datos del estudio transversal [16].

Muestreo y análisis de laboratorio

Se colectaron muestras de sangre (10 mL) de la vena coccígea de cada animal, mediante agujas desechables (21 × 1½ mm) y tubos vacutainer y se transportaron en hielo al laboratorio. Las muestras se centrifugaron a 2.000 g por 10 minutos en una centrifugadora Damon (Modelo DPR 6000, División Damon/IEC, EUA) para obtener los sueros, los cuales, se transfirieron a viales identificados y se conservaron en un congelador (marca VWR, modelo 5700; VWR Sales group, EUA) a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras de sangre se corrieron para determinar anticuerpos contra *Brucella abortus* con un kit de ELISA competitivo (*Brucella abortus*-Ab C-ELISA, Svanova Biotech AB: 10-2701-10, SE-751 83 Uppsala, Suecia) con sensibilidad y especificidad de 94,0 y 98,7%, respectivamente. Los sueros con un porcentaje de inhibición mayor o igual a 30 se consideraron positivos.

TABLA I
INCIDENCIA Y PRUEBA DE IGUALDAD DE LAS CURVAS DE SEROCONVERSIÓN POR NIVEL DE LOS FACTORES DE RIESGO EN UN ESTUDIO LONGITUDINAL PARA ANTICUERPOS CONTRA LA INFECCIÓN POR *Brucella abortus* EN HATOS LECHEROS DE MICHOACÁN, MÉXICO / INCIDENCE AND TEST OF EQUALITY OF THE SEROCONVERSION CURVES BY RISK FACTOR LEVELS IN A LONGITUDINAL STUDY AGAINST THE INFECTION OF *Brucella abortus* IN DAIRY HERDS OF MICHOACAN, MEXICO

Factores de riesgo	Nº de animales*	Sero-convirtieron	Incidencia acumulada	Animal-meses a riesgo	TIV	Valor de P (Log rank)
Tamaño de hatos						0,6656
2-9	177(24)	2	1,42	1.778,5	1,19	
10-25	273(19)	6	3,07	2.692,5	2,60	
26-55	543(19)	9	2,30	5.281,0	1,94	
Estado del hatos						0,0001
Seronegativo	723(49)	4	0,76	7.273,5	0,63	
Seropositivo	270(13)	13	7,14	2.468,5	6,17	
Sexo						0,2359
Hembra	868	17	2,52	8.872,5	2,13	
Macho	125	0	0,00	869,5	0	
Edad (meses)						0,0030
6-12	264	1	0,70	2.248,0	0,59	
13-24	180	9	6,29	1.825,0	5,41	
25-48	286	5	2,16	3.017,5	1,82	
49-132	263	2	1,04	2.651,5	0,87	
Origen del reemplazo						0,1948
Propio hatos	788	16	2,70	7.913,0	2,28	
Otros hatos	205	1	0,53	1.829,0	0,44	

*(Entre paréntesis el número de hatos). TIV = Tasa de incidencia verdadera (×1000 animales-mes a riesgo).

Análisis de los datos

Los datos de todos los animales al inicio del estudio (889) y de nuevos ingresos (104) que completaron al menos una visita fueron incluidos en el análisis estadístico. Por lo tanto, los datos estaban agrupados a nivel de rancho y el evento de interés en este estudio fue el tiempo de seroconversión.

Análisis de sobrevivencia y determinación de la incidencia

Los datos de la permanencia, en meses, de los animales seronegativos, hasta el final del periodo de monitoreo, vendidos o muertos se consideraron censurados a la derecha. El tiempo de sobrevivencia (tiempo de seroconversión) fue el número acumulado de animales mes hasta la seroconversión. La incidencia acumulada (IA) de la infección a brucelosis se calculó mediante el método de tabla de vida a través del procedimiento PROC LIFETEST del SAS [10]. El promedio de la tasa incidencia verdadera (TIV) se estimó usando la ecuación $TIV = -\logaritmo\ natural\ (1 - A)/periodo$, derivada de la ecuación $IA = 1 - e^{-TIV \cdot periodo}$ [4]; donde periodo es la duración de 12 meses del estudio y e es la base de los logaritmos naturales. Para probar la igualdad de las funciones de sobrevivencia entre los niveles de los factores de riesgo, se utilizó la prueba Log rank [10].

Análisis proporcional de Cox

En este estudio, la función de riesgo fue la probabilidad condicional de que un animal seroconvierta entre un mes dado (t_1) y el siguiente (t_2), dividido entre la probabilidad de que el animal no haya seroconvertido hasta el mes t_1 . El modelo proporcional de Cox fue

$$h(t) = h_0 e^{\beta_i X_i}$$

donde: $h(t)$ es el riesgo en un intervalo de tiempo dado, h_0 es el riesgo base (el riesgo que se obtendría si no se incluyera ningún factor de riesgo en el modelo), y β_i es el coeficiente de regresión para la i -ésima variable explicativa. La razón de riesgo en la situación donde el factor de riesgo X está presente versus la situación donde el factor de riesgo X está ausente, está dada por la fórmula [2]:

$$\frac{h(t, x = 1)}{h(t, x = 0)} = e^{\beta_i X_i}$$

El tiempo de seroconversión se describió usando un análisis de regresión de riesgo proporcional de Cox (Cox pro-

portional hazard regression analysis) para identificar variables explicativas asociadas con la seroconversión a brucelosis. Las variables explicativas, estadísticamente significativas ($P < 0,1$) en el análisis de sobrevivencia se incluyeron en el modelo de regresión de riesgo proporcional de Cox. Para ajustar por la posible correlación dentro de hatos se utilizó la opción 'c-ovsandwich [aggregate]' del procedimiento PHREG del SAS [10]. Para identificar efectos significativos de las interacciones simples entre las variables explicativas, éstas fueron adicionadas sucesivamente al modelo marginal multivariable. Las interacciones no significativas ($P > 0,05$) en la prueba de verosimilitud fueron eliminadas. Los límites de confianza de las razones de riesgo (RR) en el modelo final se basaron en la prueba de Wald [2]. El modelo final incluyó las variables: estado serológico del hato y grupo de edad del animal. Las suposiciones de proporcionalidad del modelo de Cox para las variables explicativas significativas se evaluaron por la no significancia de la interacción de la variable tiempo con cada una de las variables explicativas incluidas en el modelo.

Para facilitar la interpretación de las razones de riesgo, el tamaño de hato se agrupó como una variable categórica con tres estratos: de 2 a 9, de 10 a 25 y de 26 a 55 animales. Hatos con 0 ó 1 animal seropositivo se consideraron negativos y hatos con 2 o más animales positivos se consideraron positivos; esto debido a que la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA de competencia no era del 100%. Otros factores de riesgo fueron: sexo (macho o hembra), grupo de edad (6-12; 13-24; 25-48 y > 48 meses) e origen del animal (nacido en el rancho o comprado). Los datos de los animales se usaron para determinar si la incidencia de los animales estaba asociada a las variables explicativas (factores de riesgo) antes mencionadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia

De los 993 (889 al inicio) animales estudiados, 17 seroconvirtieron y 976 fueron censurados (9.740 animales-mes a riesgo). Durante el periodo de estudio, 284 animales fueron vendidos, uno murió de anaplasmosis y 104 fueron introducidos (comprados o autoreemplazos). La incidencia acumulada general durante los 12 meses de estudio fue 2,34% y la tasa de incidencia verdadera (TIV) fue 1,97 por 1.000 animales-mes a riesgo. Las incidencias para cada nivel de los factores de riesgo se presentan en la TABLA I. Las incidencias acumuladas para los hatos seronegativos y seropositivos fueron 0,76 y 7,14%, respectivamente. En ambos grupos de animales, el primer caso de seroconversión se detectó a los 3 meses de exposición. Las TIV fueron 0,63 y 6,17 \times 1.000 animales-mes a riesgo para los hatos seronegativos y seropositivos. Los animales pertenecientes al grupo de edad de 6-12 meses tuvieron las incidencias acumuladas más bajas (0,70%) y los animales del grupo de edad de 13-24 meses tuvieron las incidencias más altas (6,29%).

La presencia de nuevos casos de seropositividad a brucelosis en los hatos estudiados (2,34%) confirma la exposición y posible circulación del agente etiológico, el cual puede estar causando la enfermedad en la población animal de Cotzio-Tejaro, Michoacán. No se encontraron en la literatura valores de incidencia para la seroconversión a brucelosis; sin embargo, la incidencia de anticuerpos a *B. abortus* encontrada es menor al rango de prevalencias notificadas para ganado lechero en Tijuana, México 6,4% [8] y 9,2% [12]. Esto es debido a que, comúnmente los valores de prevalencias son mayores que los de incidencia.

Análisis de sobrevivencia y análisis proporcional de Cox

El análisis de sobrevivencia no mostró diferencias ($P > 0,10$) entre niveles de los factores tamaño de hato, sexo y origen de los animales, pero se observaron diferencias para el estado serológico del hato y grupo de edad (TABLA I). Similarmente, en la regresión de riesgo proporcional de Cox, el estado serológico del hato y el grupo de edad fueron significativos ($P < 0,001$). Las curvas de seroconversión por nivel para cada uno de los factores de riesgo fueron paralelas y la interacción de la variable tiempo con los factores no fueron significativas ($P > 0,10$) indicando que la suposición de riesgo proporcional del modelo de Cox se cumplió.

El inicio, propagación y persistencia de la brucelosis bovina en los hatos son función de una serie de factores relacionados con las características de la población animal, tipo de manejo y las características biológicas de la enfermedad. Entre los factores que influyen en la transmisión de la brucelosis se citan: la introducción de animales y la presencia de animales seropositivos en el hato [13]. En este estudio, los animales en los hatos considerados seropositivos tuvieron mayor riesgo de infección (RR = 8,65) que aquellos en los hatos seronegativos (TABLA II), lo que indica que el contacto de animales infectados con animales susceptibles son una causa de diseminación de la enfermedad en el hato. Según algunos autores, el contacto entre animales de diferentes edades, aumenta el riesgo de infección [11, 14]. Además, la proximidad de hatos infectados con hatos libre de brucelosis puede ser importante para la transmisión de la enfermedad entre hatos. La presencia y distribución de la infección dentro de los hatos dependerá de la proporción de animales susceptibles y la existencia o no de programas de medicina preventiva [6].

El efecto del grupo de edad estuvo asociado con la seroincidencia: animales del grupo de edad más joven (6-12 meses) tuvieron el menor riesgo (RR= 1) y los animales en el grupo de edad de 13-24 meses tuvieron el mayor riesgo de seropositividad (RR= 9,05) (TABLA II). La mayor incidencia para el grupo de edad de animales con 13-24 meses de edad sugiere que esta etapa de la vida es la de mayor riesgo. La susceptibilidad a la infección está más relacionada con la madurez sexual que con la edad *per se* y, por ello, los animales jóvenes sexualmente inmaduros generalmente no se infectan luego de la exposición o se recuperan rápidamente [1]. Después de la

TABLA II
RAZÓN DE RIESGO E INTERVALOS DE CONFIANZA PARA ALGUNOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS
CON BRUCELOSIS EN HATOS LECHEROS DE MICHOACÁN, MÉXICO / RISK RATIOS AND CONFIDENCE INTERVALS FOR SOME
RISK FACTORS ASSOCIATED WITH BRUCELLOSIS IN DAIRY HERDS OF MICHOACAN, MEXICO

Factor de riesgo	N	b	S.E.	RR ^a	95%IC ^a
Estado serológico del hato					
Positivo	723	2,16	0,59	8,65	2,72; 27,56
Negativo	270	-	-	1	-
Grupo de edad (meses)					
6 a 12	264	-	-	1	-
13 a 24	180	2,20	1,04	9,05	1,17; 70,10
25 a 48	286	1,25	1,07	3,50	0,43; 28,50
> 48	263	0,82	0,25	2,26	1,38; 3,70

N = Número de animales. ; b = Coeficientes de regresión. S.E.= Error estándar de b. RR = Razón de riesgos. 95% IC = Intervalo de confianza al 95%. ^aAjustado por efecto de hatos.

madurez sexual, la edad no parece ser un determinante a considerar [1]. La disminución de incidencia para el grupo de edades mayores de 24 meses podría explicarse como un efecto del desecho de animales improductivos, algunos de los cuales por causas asociadas a la brucelosis (problemas reproductivos y disminución de la producción láctea).

Aun cuando, el origen de los animales, en el presente estudio, no fue un factor de riesgo importante ($P > 0,10$), estudios de sección cruzada con ganado para carne [15] y ganado lechero [8] en México indican que el origen de los animales es un factor de riesgo potencial para otras enfermedades. Asimismo, otros autores, también en estudios de sección cruzada indican que el tamaño de hato es un factor de riesgo para la seropositividad a la brucelosis bovina [13]. Posiblemente, como la diferencia en el tamaño de los hatos en la región de Cotzio-Tejaro no es muy grande (rango 2-43 vacas) ello no permitió detectar diferencias; de igual modo, tamaños de hato muy diferentes pueden estar asociados a sistemas de producción y prácticas de manejo diferentes, por lo que tamaño de hato puede ser considerado como un factor de confusión.

La baja incidencia encontrada en este estudio y las bajas seroprevalencias de hato y animal reportadas en la región [16], sugieren la implementación de un programa de eliminación de animales seropositivos que permita la segregación de serotipos. La Norma oficial mexicana [9] establece las políticas para este tipo de escenarios; sin embargo, para su ejecución es conveniente involucrar a ganaderos y autoridades para determinar el programa de acción correcto.

CONCLUSIÓN

La presencia de nuevos casos (2,34%) de seroconversión contra *Brucella abortus* indica que, el agente causal de la

brucelosis está circulando en los hatos lecheros de la región de Cotzio-Téjaro, Michoacán. La incidencia de la enfermedad fue influenciada por el estado sanitario del hato y por la edad de los animales. Por lo tanto, se recomienda la aplicación estricta de la norma mexicana contra la brucelosis para mantener los hatos seronegativos y establecer programas de manejo de animales por grupo de edades, para evitar el contagio de los animales adultos hacia los jóvenes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CRAWFORD, R.P.; HUBER, J.D.; ADAMS, B.S. Epidemiology and surveillance. In: K. Nielsen and J.R. Duncan (Eds). **Animal Brucellosis**. CRC Press. Boca Raton, Florida. 131-151 pp. 1990.
- [2] FRANKENA, K.; GRAAT, E.A.M. Analysis of time at risk (Survival) data. In: NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; THRUSFIELD, M.V.; GRAAT, E.A.M. (Eds). **Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology**. Wageningen Pers. Wageningen The Netherlands. 179-214 pp. 2001.
- [3] GODFROID, J.; CLOECKAERT, A.; LIAUTARD, J.P.; KOHLER, S.; FRETIN, D.; WALRAVENS, K.; GARIN-BASTUJI, B.; LETESSON, J.J. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a reemerging zoonosis. **Vet. Res.** 36:313-326. 2005.
- [4] HENKEN, A.M.; GRAAT, E.A.M.; CASAL, J. Measurement of disease frequency. In: NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; THRUSFIELD, M.V.; GRAAT, E.A.M. (Eds). **Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology**. Wageningen Pers. Wageningen The Netherlands. 64-69 pp. 2001.

- [5] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA (INEGI). Marco Geoestadístico. 1995. En línea: <http://www.inegi.gob.mx>. 20/12/2007.
- [6] MCDERMOTT, J.J.; ARIMI, S.M. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. **Vet. Microbiol.** 90:111-134. 2002.
- [7] MIKOLON, A.B.; GARDNER, I.A.; HERNANDEZ DE A., J.; HIETALA, S.K. Risk factors for brucellosis seropositivity of goat herds in the Mexicali Valley of Baja California, Mexico. **Prev. Vet. Med.** 37:185-195. 1998.
- [8] MORENO-ROSALES, J.F.; RENTERIA-EVANGELISTA, T.B.; SEARCY-BERNAL, R.; MONTAÑO-GÓMEZ, M.F. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina en hatos lecheros de Tijuana, Baja California. **Tec. Pec. Mex.** 40:243-249. 2002.
- [9] SECRETARIA DE AGRICULTURA GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la brucelosis de los animales. Diario Oficial. México, D.F. 1995. En línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/v1/ganaderia/NOM/041zoo.pdf>. 22-05-2010.
- [10] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). SAS/STAT User's Guide, Cary, North Carolina. 891-1686 pp. Version 8,1. 2000.
- [11] RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Enfermedades causadas por bacterias-III. En: **Medicina Veterinaria; tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino**. 9ª Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. 1025-1053 pp. 2002.
- [12] SALMAN, M.D.; MEYER, M.E. Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley, Mexico: Literature review of disease-associated factors. **Am. J. Vet. Res.** 45:1557-1560. 1984.
- [13] SALMAN, M.D.; HERNANDEZ DE A., J.; BRAUN, I. A seroepidemiological study of bovine diseases in dairy farms of the coastal region of Baja California, Mexico. **Prev. Vet. Med.** 9:143-153. 1990.
- [14] SMITS, H.L.; CUTLER, S.J. Contribution of biotechnology to the control and prevention of Brucellosis in Africa. **Afr. J. Biotechnol.** 3:631-636. 2004.
- [15] SOLÍS-CALDERÓN, J.J.; SEGURA-CORREA, V.M.; SEGURA-CORREA, J.C.; ALVARADO-ISLAS, A. Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. **Prev. Vet. Med.** 57:253-262. 2003.
- [16] SOLORIO-RIVERA, J.L. Análisis de riesgo de enfermedades abortivas en el sistema de lechería familiar en la región centro del estado de Michoacán. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. Trabajo de Grado. 238 pp. 2004.
- [17] TABOADA, N.; CAMPOS, M.; LEYVA, R.; GÓMEZ, J.; MANSILLA, C.; SALAZAR, M. Seroprevalencia de brucelosis en ganado caprino en hatos de Callao, Peru, 2003. **Rev. Peru. Med. Exp. Sal. Públ.** 22:139-144. 2005.