

TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

Seroprevalencia de *Brucella spp.* en la ciudad de Gondar, Etiopía

Alumno: Ana López Soler

Tutor: Joel Bueso Ródenas

Curso académico: 2020/2021



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por tanto esfuerzo y paciencia,
por su apoyo incondicional.

A la Universidad Católica de Valencia y a Joel,
por brindarme la oportunidad de ver África con
los ojos del veterinario.

A Javier, por acompañarme en esta aventura.

Índice

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
3.1. Sistema de producción animal en Etiopía y en Gondar (región Amhara).....	3
3.2. Brucelosis	3
3.2.1. Vacuna de <i>Brucella spp.</i>	6
3.2.2. Estrategias específicas de control y erradicación	8
3.3. Importancia de las enfermedades zoonóticas en Etiopía	10
4. OBJETIVOS	12
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
5.1. Diseño del estudio.....	13
5.2. Muestra de estudio	13
5.3. Trabajo de campo.....	15
5.4. Trabajo de laboratorio	17
5.5. Análisis estadístico	17
6. RESULTADOS.....	18
7. DISCUSIÓN	20
8. CONCLUSIONES	25
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
10. ANEXOS	I
10.1. ANEXO I: Modelo de encuesta realizada a los ganaderos sobre sanidad animal y seguridad alimentaria	I

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados de la prueba Rosa de Bengala en ovinos machos y hembras para el diagnóstico indirecto de <i>Brucella spp.</i> en la región de Gondar, Etiopía.	18
Tabla 2. Resultados de la prueba Rosa de Bengala en bovinos macho y hembras para el diagnóstico indirecto de <i>Brucella spp.</i> en la región de Gondar, Etiopía.	18
Tabla 3. Resultados de la prueba de Rosa de Bengala para <i>Brucella spp.</i> dependiendo del destino del producto (venta y autoconsumo), en la región de Gondar, Etiopía.....	19
Tabla 4. Resultados de diferentes estudios realizados sobre la prevalencia de <i>Brucella spp.</i> en ganado bovino en distintas zonas de Etiopía.....	20
Tabla 5. Resultados de diferentes estudios realizados sobre la prevalencia de <i>Brucella spp.</i> en el ganado ovino en distintas zonas de Etiopía.	21

Índice de figuras

Figura 1. Raza ovina Awassi.....	14
Figura 2. Raza ovina Afar	14
Figura 3. Raza bovina Frisona.....	15
Figura 4. Raza bovina Cebú	15
Figura 5. Extracción de sangre de la vena yugular	16
Figura 6. Extracción de sangre en vena coccígea.....	16
Figura 7. Mapa de Etiopía con las distintas zonas de estudio.....	22

1. RESUMEN

La brucelosis es una enfermedad causada por una bacteria del género *Brucella spp.* que afecta tanto a animales como a humanos. Este patógeno cursa con distintos signos clínicos reproductivos que suelen terminar en abortos. Este agente zoonótico en personas tiene un cuadro clínico muy inespecífico que suele confundirse con malaria. Etiopía es una región que basa su economía en la ganadería y en donde se ha descrito en estudios previos que la brucelosis está muy extendida. Además de las pérdidas económicas, esta enfermedad supone un riesgo para la salud animal y humana del país. Este estudio se realizó entre el año 2018 y 2019, es un estudio transversal de seroprevalencia, de *Brucella melitensis* y *Brucella abortus* en bovino y ovino, respectivamente. El estudio se realizó entre la Universidad Católica de Valencia (España) y la Universidad de Gondar (Etiopía), sobre la región de esta última. Con este estudio se concluyó la presencia de *Brucella spp.* con una prevalencia de 17,64% y 38,30%, para ovino y bovino respectivamente. La relación entre el sexo del animal y la presencia del patógeno no resultó estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Palabras claves: Zoonosis, *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, Aborto en rumiantes, Fiebres de Malta.

2. ABSTRACT

Bacteria coming from the genus *Brucella spp.* causes a disease called brucellosis. This disease affects both animals and humans. This pathogen is presented with different reproductive clinical signs that usually end up in abortion. Also, the zoonotic agent does not have specific clinical symptoms in people, which this characteristic could lead to a confusion with malaria. On the other hand, Ethiopia is a region that bases its economy on livestock and where it has been described in previous studies that brucellosis is widespread. Besides the economic losses, this disease entails a risk to the health of humans and animals of the country. This study was conducted between 2018 and 2019. It is a cross-sectional study of seroprevalence of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* in cattle and sheep, respectively. The study was done by Universidad Católica de Valencia (Spain) and the University of Gondar (Ethiopia), in the region that was just mentioned, Gondar. With this study, it was concluded the presence of *Brucella spp.* with a prevalence of 17,64% and 38,30%, for sheep and cattle respectively. Finally, the relationship between the sex of the animal and the presence of the pathogen was not statistically significant ($p > 0,05$).

Keywords: Zoonosis, *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, Ruminant abortion, Malta Fever.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Sistema de producción animal en Etiopía y en Gondar (región Amhara)

La agricultura y la ganadería son la principal actividad económica que tiene Etiopía. Estos dos campos están estrechamente relacionados entre sí para poder obtener beneficios complementarios, ya que los pastos naturales, los residuos de cultivos y los rastrojos de los cultivos se utilizan como principal alimento para el ganado (Alemayehu *et al.*, 2021). La ganadería en este país se usa para la obtención de leche y productos lácteos, obtención de crías, transporte (camellos y burros), preparación de terreno (bueyes y camellos) o trueques (Dixon *et al.*, 2001).

El sistema de producción ganadera dominante es un sistema extensivo, donde los animales pueden pastar libremente durante el día y se mantienen en recintos abiertos durante la noche y en ocasiones conviven con personas (Megersa *et al.*, 2011). Dichos pastos son comunes para las distintas especies de ganado y de distintas aldeas, lo cual hace más fácil la transmisión de enfermedades entre rebaños (Edao *et al.*, 2020). Además, podemos clasificar los sistemas de producción ganadera según el clima. En África Subsahariana encontramos cinco zonas climáticas: las tierras áridas, semiáridas, subhúmedas, húmedas y montañosas. En las tierras áridas y semiáridas, localizado en el sur y este de África, predomina un sistema de pastoreo donde el ganado es fundamental para el sistema agrícola. Estos sistemas agro-pastorales varían según el clima, siendo la ganadería más numerosa y móvil en los sistemas semiáridos. En las áreas subhúmedas, la producción agrícola depende de la producción de cultivos y el ganado simplemente es importante para la tracción. En las zonas húmedas, apenas hay ganado y predomina la producción agrícola. Por último, en las zonas montañosas, las granjas tienden a ser más pequeñas, con menos de 10 unidades de ganado (McDermott y Arimi, 2002).

A pesar de que las principales especies ganaderas en Etiopía son el ganado vacuno, camellos, cabras y ovejas, en la región de Amhara predominan el ganado vacuno y las ovejas, donde la práctica normal de pastoreo es ambas especies juntas, pudiendo ser uno de los presuntos factores de la transmisión de *Brucella spp.* (Edao *et al.*, 2020).

3.2. Brucelosis

La brucelosis es la denominación genérica de las infecciones, animales o humanas, causadas por el género *Brucella spp.* (Organización mundial de la Sanidad Animal [OIE], 2016). Esta infección se caracteriza por fallos reproductivos, abortos o debilidad en la progenie. Aunque los animales se recuperen, pueden seguir excretando la bacteria, aumentando así la tasa de

contagios, ya que la bacteria puede sobrevivir en el medio externo varios meses. Se transmite cuando el animal enfermo aborta, pero puede colonizar las ubres y contaminar la leche, por eso la importancia de pasteurizar la leche. También puede transmitirse a través de heridas en la piel o de las mucosas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2012; Organización Mundial de la Sanidad Animal [OIE], 2008, 2013).

Se conoce la preferencia de las especies patógenas de *Brucella spp.* sobre determinados huéspedes reservorios. Se ha documentado una tendencia creciente de su capacidad de infectar a diferentes mamíferos. Los animales silvestres juntos con otros huéspedes reservorios ayudan al mantenimiento de la infección, lo que compromete tanto la salud pública como la salud animal (Olsen y Palmer, 2014).

Biológicamente, las especies de *Brucella spp.* son cocobacilos intracelulares facultativos, gramnegativos, flagelados, inmóviles, oxidasa positivos, catalasa positivos, ureasa positivos, no formadores de esporas, no encapsulados y parcialmente acidorresistentes que carecen de cápsulas, endosporas o plásmidos. No pueden sobrevivir a la mayoría de los desinfectantes. En condiciones adecuadas, *Brucella spp.* puede sobrevivir fuera del huésped durante un período de tiempo prolongado. Pueden permanecer viables en la canal y los tejidos durante 6 meses a 0 ° C, hasta 125 días en el suelo y 1 año en las heces. La pasteurización elimina eficazmente a *Brucella spp.* en la leche (Negash y Dubie, 2021).

La brucelosis es una enfermedad zoonótica económicamente importante de los animales domésticos y los seres humanos, que también puede afectar a la vida silvestre. De las seis especies clásicas de *Brucella spp.* reconocidas, cuatro se consideran patógenas para el hombre: *Brucella melitensis*, que afecta predominantemente a las cabras y ovejas, es la causa más común de la brucelosis humana, mientras que *Brucella abortus*, que se encuentra principalmente en bovinos, búfalos, alces, yaks y camellos, es la segunda causa más común de la infección en humanos. *Brucella suis* infecta a los cerdos y roedores domésticos, pudiendo ser el aborto el único signo clínico observado. *Brucella canis* en caninos está aumentando en importancia como fuentes de brucelosis humana. El cuadro clínico de la infección en cánidos cursa con placentitis, endometritis y abortos tardíos. También pueden producirse lesiones oculares y esqueléticas como discoespondilitis (Edao *et al.*, 2020; Olsen y Palmer, 2014).

En el ganado bovino suele ser asintomática en animales de corta edad y en hembras no gestantes. En hembras gestantes, esta infección se manifiesta con placentitis que suele dar aborto entre los 7 y 9 meses de gestación, excretando así el microorganismo. Esta placentitis

suele ser necrotizante con exudado sanguinolento y fibrina. Las vacas pueden presentar un flujo vaginal hemorrágico y supurativo durante varios días después del aborto con potencial infectante para el ser humano y otros animales. También pueden resultar infectados los ganglios linfáticos y la glándula mamaria, pudiendo excretarse el patógeno con la leche ordeñada. En machos adultos pueden causar orquitis/epidimitis (OIE, 2016). En los bóvidos, el curso de la enfermedad es largo, desde la infección hasta el aborto suelen pasar varios meses. Algunos autores opinan que el aborto se debe a un intercambio metabólico fetal-materno comprometido. Podemos encontrar bronquitis y bronconeumonía como lesiones fetales características de la enfermedad. El órgano fetal más infectado es el bazo, resultado de la bacteriemia (Olsen y Palmer, 2014).

En cuanto a los pequeños rumiantes, las vías de transmisión del patógeno son la placenta, líquidos fetales y secreciones vaginales de animales infectados, así como las secreciones de la ubre y el semen. La mastitis es una característica bastante común de los animales infectados. La glándula mamaria afectada se caracteriza con una firmeza multinodular con leche coagulada y acuosa. Puede aislarse *Brucella spp.* de distintos tejidos, como ganglios linfáticos, órganos asociados a la reproducción (útero, epidídimo y testículos), así como de las lesiones artríticas (OIE, 2016). A pesar de la normalidad aparente en los fetos abortados, a menudo se encuentra, en la necropsia, bronconeumonía, líquido pleural hemorrágico, hepatomegalia y esplenomegalia. Se considera *Brucella melitensis* la más virulenta de las especies, y la más difícil de eliminar del ganado doméstico. Los pequeños rumiantes son muy susceptibles a su infección, siendo así la principal fuente de infección para los humanos (Olsen y Palmer, 2014).

La brucelosis humana es una enfermedad multisistémica, de aguda a crónica, que cursa con fiebre, dolor de cabeza y articulares, dolores musculoesqueléticos, sudoración, malestar y desgaste corporal. Puede cursar con endocarditis, asociado a la infección de *Brucella melitensis*, siendo la principal causa de mortalidad humana. Los periodos de incubación suelen ser de hasta 6 meses y los síntomas pueden persistir varios años (Olsen y Palmer, 2014). Las vías de transmisión son oral, respiratoria o conjuntiva, pero la ingesta de productos lácteos crudos constituye el principal riesgo para el público general en los lugares en los que la enfermedad es endémica (OIE, 2016). También se ha descrito una transmisión entre personas que es poco común y se realiza a través de la leche materna o vía venérea (Olsen y Palmer, 2014). A causa de los signos inespecíficos, esta enfermedad está mal diagnosticada y se suele confundir con la malaria, la cual es muy frecuente. Debido al difícil diagnóstico y la falta de servicios sanitarios, la brucelosis humana rara vez es diagnosticada y tratada, por lo tanto, no hay datos

epidemiológicos precisos sobre esta enfermedad en humanos (McDermott y Arimi, 2002). La prevalencia más alta de esta zoonosis en humanos se encuentra en áreas de África, Asia, América Latina y el Medio Oriente (Olsen y Palmer, 2014).

Hoy en día, la infección humana por *Brucella canis* se considera poco común, aunque el número de casos tiene tendencia creciente durante la última década. Esta infección causa endocarditis y peritonitis entre otros síntomas clínicos en humanos. Entre personas, las vías de transmisión más frecuentes son el contacto con perros infectados por sus secreciones, cachorros abortados o membranas fetales. Hay que tener en cuenta que la infección por *Brucella canis* en humanos está infradiagnosticada debido a un bajo índice de sospecha o síntomas inespecíficos. Esta zoonosis parece estar relacionada con la población de bajo nivel socioeconómico, que viven en zonas marginales de las ciudades, donde existe una mayor población de perros callejeros (Olsen y Palmer, 2014).

La infección por *Brucella spp.* figura en el *Código Sanitario para los Animales Terrestres* de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y deben ser notificadas de manera obligatoria a la OIE (*Código Sanitario para los Animales Terrestres*) (OIE, 2016). En España la situación es muy distinta. En abril se reconoció a España como país oficialmente indemne de *Brucella spp.* (Reglamento en ejecución 2021/620). No obstante, la Red de Alerta Sanitaria Veterinaria (RAVSE) confirmó un foco de *Brucella spp.* en ganado ovino en Mora de Rubielos, Teruel, a finales de mayo de 2021 (Redacción de Diario Veterinario, 2021).

3.2.1. Vacuna de *Brucella spp.*

Actualmente, existen tres vacunas contra la brucelosis en el mercado. Dos de ellas para el ganado bovino (*B. abortus* S19 y *B. abortus* RB51) y una para pequeños rumiantes (*Brucella melitensis* Rev1). Estas vacunas son “vacuna del huésped” y no vacunas contra una especie concreta de *Brucella spp.*, es decir, la utilización de una u otra vacuna va a depender de la especie del huésped y no de la especie de *Brucella spp.* (Ducrotoy *et al.*, 2017).

El control de la enfermedad sería posible gracias a la vacunación. Actualmente, las vacunas que están en uso utilizan cepas vivas atenuadas que resultan altamente efectivas para prevenir los efectos clínicos de la brucelosis, que son los causantes de la transmisión de la enfermedad. Sin embargo, las vacunas que están disponibles hoy en día no son tan eficaces (previniendo la infección o seroconversión) una vez que el individuo ha entrado en contacto con la cepa de campo virulenta. Las vacunas vivas con *Brucella abortus* cepa 19 y *Brucella melitensis* cepa Rev1 y la vacuna muerta de *Brucella abortus* cepa 45/20 se utilizaban en condiciones de campo en

todo el mundo en la década de los años 60. En los últimos 50 años no ha habido grandes progresos en la elaboración de vacunas desarrolladas, exceptuando las cepas de *Brucella abortus* 82 en 1974 y de *Brucella abortus* cepa RB51 en 1996. Para humanos también sigue siendo un reto encontrar una vacuna contra la brucelosis con suficiente seguridad y eficacia (Olsen y Palmer, 2014).

La utilización de la vacuna como única herramienta para afrontar la enfermedad en países endémicos no parece ser una posibilidad. La enfermedad presenta gran variabilidad de prevalencias y pérdidas económicas asociadas, por lo que en las zonas más afectadas deberían combinarse con medidas adicionales (Dadar *et al.*, 2021).

La medida más económicamente viable para el control de la brucelosis es la vacunación del ganado a partir de los 4 meses de edad. Pero la vacunación no actúa eliminando la enfermedad existente en ninguna especie hospedadora. Hoy en día, las cepas vivas de *Brucella abortus* que más se utilizan para controlar la enfermedad son RB51 y S19. Se ha reportado que para obtener la mayor eficacia en el control y erradicación de brucelosis en pequeños rumiantes de todas las edades es la vacuna *Brucella melitensis* Rev1 (Dadar *et al.*, 2021).

Hay que tener en cuenta que algunas vacunas, como la *Brucella abortus* cepa RB51, nos pueden alterar los resultados en pruebas serológicas de detección de la enfermedad. En estos animales tendríamos falsos positivos, aunque aún no está claro si se debe a infecciones patógenas por *Brucella spp.* o por la exposición pasiva a los antígenos (Dadar *et al.*, 2021).

Uno de los problemas que nos encontramos en África Subsahariana es que, exceptuando Sudáfrica, ningún país tiene la tecnología necesaria para elaborar estas vacunas. Son vacunas vivas liofilizadas, por lo tanto, cobra mucha importancia el mantenimiento de la cadena del frío para que no se desestabilice el número de bacterias del producto liofilizado final. Teniendo en cuenta los factores de protección, interferencias con pruebas serológicas y efecto abortivo, la vacuna S19 es la única que se puede recomendar en África Subsahariana. La vía de elección para esta vacuna es la vía conjuntival (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Se debe tener en cuenta que se pueden llegar a alterar las pruebas serológicas por interferencia con la vacuna, tanto la RB51 como la S19. Además, se debe llevar un registro de los animales vacunados para poder llevar a cabo un plan de diagnóstico y sacrificio, en caso de ser positivo. Esto no es una situación factible debido a las condiciones socioeconómicas de estos países (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Un efecto adverso de las vacunas para bovino (S19 y RB51) es la posibilidad de causar abortos en vacas gestantes, pero se reduce a menos del 1% si se administra por vía conjuntival en la S19. En el caso de los machos se ha visto una relación entre la administración subcutánea de la S19 e infecciones genitales (Ducrotoy *et al.*, 2017).

En cuanto a la vacunación para pequeños rumiantes, la Rev1 ha sido fundamental para la erradicación de la infección de *Brucella melitensis* en estas especies en algunos países mediterráneos europeos (Ducrotoy *et al.*, 2017).

3.2.2. Estrategias específicas de control y erradicación

La vacunación es una buena opción en los casos que sea factible, pero como conocemos las circunstancias de la zona, deberían cobrar más importancia otras medidas que se basen en el compromiso con los ganaderos, la educación, y medidas complementarias. Esto se debe al papel que tiene la enfermedad no solo en personas si no en muchas especies animales, los distintos reservorios, la situación epidemiológica del rebaño y la gran variabilidad de signos clínicos en humanos. Si fuese una enfermedad con ocurrencia ocasional en humanos y prevalencia individual baja en animales, se clasificaría como enfermedad de baja prioridad que se combatiría con medidas básicas de higiene en el manejo animal y pasteurización de la leche, pero no es la situación que vive Etiopía (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Debido a la polivalencia del patógeno y de los distintos reservorios que pueden existir, el problema podría afectar a otros sistemas de producción y convertirse en un problema aún mayor si las condiciones cambian. Otro riesgo para tener en cuenta es la posible introducción del patógeno en la vida silvestre, haciendo imposible su erradicación ya que se podrían instaurar nuevos reservorios permanentes (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Cuando se haya establecido la presencia de brucelosis tanto en personas como humanos, se deberían valorar los siguientes puntos críticos: la posibilidad de los veterinarios de realizar la vacunación de manera eficaz, la posibilidad de identificar a los animales con marcado individual, la disponibilidad de un censo, la participación de los criadores y la disponibilidad de los fondos necesarios. Cuando alguna de estas condiciones no se cumple, la única opción sería la vacunación masiva. En los casos en los que la prevalencia colectiva sea alta también optaremos por una estrategia de vacunación masiva, independientemente de que se cumplan o no los requisitos mencionados anteriormente. Posterior a esto, se realiza un programa de eliminación y reemplazo de animales positivos basados en pruebas serológicas, por animales jóvenes

vacunados. En la situación ideal en la que el programa dé resultados satisfactorios, podríamos llegar a considerar la eliminación de la pauta vacunal (Ducrotoy *et al.*, 2017).

A las dificultades políticas, económicas y geográficas, hay que sumar que en África Subsahariana los servicios de salud animal del sector público son bastante deficientes, y tampoco hay un sector privado que pueda cumplir esa función. La estrategia anteriormente comentada de realizar vacunación de reemplazos jóvenes haciendo pruebas serológicas a todo el rebaño y sacrificando a los adultos no es realista por el sistema de producción basada en el pastoreo en extensivo que se realiza en estas regiones. Entre otras dificultades, esta estrategia se enfrenta a que los propietarios mantienen reemplazos durante todo el año y se necesitarían visitas regulares de campo para garantizar la cobertura completa de la vacuna, siendo entonces más costoso y menos factible. Además, existen numerosas explotaciones de pequeño tamaño y sistemas pastores nómadas, donde la correcta localización de los individuos se hace casi imposible. Por lo tanto, si existen recursos económicos suficientes, el protocolo a seguir sería la vacunación masiva repetida, única estrategia realista dada la situación de la enfermedad y las condiciones de la región. Al hacer la vacunación masiva en un primer momento quitamos la dificultad de tener que realizar diagnósticos, reduciendo esa parte de costo y manejo. En el caso de que esta estrategia diese resultados, disminuyendo la prevalencia, podríamos valorar realizar la estrategia de reemplazo con animales jóvenes vacunados (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Ya se propuso en los años 70 la vacunación masiva para áreas remotas o de pocos recursos alegando que las pruebas rutinarias y el sacrificio no eran factibles en estas áreas, independientemente de la interferencia serológica. Además, la identificación mediante el marcado de las orejas podía favorecer miasis e infecciones de oído en este tipo de climas. No obstante, ya que vamos a vacunar a animales en cualquiera de sus etapas productivas, es necesario advertir a los ganaderos de los posibles efectos secundarios. En bovino, la vacuna puede provocar infecciones mamarias y abortos en un 1% de los animales lactantes y gestantes, respectivamente. Esto hace que la vacunación masiva sea la opción más práctica y económica de controlar la enfermedad en bovino. Sin embargo, la vacuna para pequeños rumiantes (Rev1) no tiene el mismo grado de seguridad, provocando tasas de abortos e infecciones mamarias muy altas. Esto hace que la vacunación en cabras y ovejas gestantes sea algo inviable. Con la vacuna actual, los estadios reproductivos más seguros para vacunar son: periparto, lactancia y periodos de cubriciones. La fisiología de los pequeños rumiantes nos puede ayudar a encontrar estas ventanas fisiológicas donde realizar la vacunación masiva con un cierto grado de seguridad, pero es problemático en contextos donde no hay estacionalidad reproductiva (Ducrotoy *et al.*, 2017).

Una condición indispensable para lograr la mayor eficacia posible con esta estrategia es que la vacunación se mantenga a lo largo del tiempo. Una vez aplicada la primera vacunación con S19 o rev1 según la especie, lo ideal sería que cada año se vacunase solo a la próxima generación de reemplazo. Esto estaría asociado al mercado individual, que como ya se ha dicho anteriormente, tiene numerosas dificultades y muchas veces no es viable. En el caso de pequeño rumiante, es importante cumplir con las ventanas fisiológicas mencionadas anteriormente para reducir el número de abortos. Es necesario el estudio de una nueva vacuna para pequeños ruminantes con una seguridad similar a la de bovino para poder realizar esta estrategia con mucha más contundencia (Ducrotoy *et al.*, 2017).

En la medida de lo posible, para suplementar este programa y maximizar su eficacia estaría indicado el diagnóstico de los animales vacunados a los 15-21 días tras la administración de la vacuna mediante la prueba Rosa de Bengala. En condiciones normales tendrían que dar positivo entre el 70% y el 90% de los animales vacunados. A esto se le puede añadir la monitorización del estado de la enfermedad en humanos mediante el cribado de personas realizando también la prueba Rosa de Bengala (Ducrotoy *et al.*, 2017).

3.3. Importancia de las enfermedades zoonóticas en Etiopía

Etiopía tiene la mayor población ganadera de África, así, se estima que la población total de ganado bovino del país ronda los 60,39 millones (Bifo *et al.*, 2020) y 29,64 millones de ganado ovino. En Etiopía el 80% de los hogares tienen la cría de ganado como principal fuente de sustento, ingresos y empleo, siendo así vulnerable a los impactos de las enfermedades zoonóticas. Además, hay que añadir que el 82% de esos hogares consume la leche sin pasteurizar y la carne cruda, aumentando así el riesgo de contraer enfermedades zoonóticas (Sintayehu *et al.*, 2015). Por tanto, las enfermedades zoonóticas tienen una importancia socioeconómica, afectando al comercio internacional de animales y sus productos, y de salud pública por el contacto directo de las poblaciones locales con los animales y el consumo de alimentos de origen animal sin una adecuada preparación (Sintayehu *et al.*, 2015).

Los estilos de vida, los hábitos alimentarios, el contacto cercano con los animales, el escaso conocimiento de las zoonosis y las malas condiciones higiénicas, además de una falta de control eficaz y una vigilancia inadecuada de las enfermedades, facilitan la transmisión entre el ganado y los seres humanos (Edao *et al.*, 2020; Tesfaye *et al.*, 2021).

La brucelosis bovina es considerada como una de las zoonosis bacterianas más comunes del mundo y una enfermedad que afecta a la salud pública, altamente contagiosa y

económicamente importante. La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), la OMS (Organización Mundial de la Salud) y la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) consideran la brucelosis como una de las zoonosis más extendidas en el mundo. Esta enfermedad causa pérdidas económicas no solo a los productores de leche sino también a los productores de ovejas, cabras y cerdos en áreas infectadas. Este perjuicio se traduce en abortos, esterilidad, nacimiento de crías débiles, disminución de la producción de leche, pérdida de peso de los animales, cojera, eficiencia de cría reducida, costos de asistencia veterinaria, costo de sacrificio y reemplazo de animales y costes de vacunación (Negash y Dubie, 2021). La brucelosis bovina figura entre las cinco principales enfermedades zoonóticas de Etiopía, siendo además de declaración obligatoria (OIE, 2016). En África, tanto las enfermedades infecciosas del ganado como las humanas están mal controladas. En los últimos 20 años se ha disminuido progresivamente las enfermedades infecciosas gracias a los fondos públicos para el control de dichas enfermedades, a pesar de ello, la OMS considera la brucelosis como responsable de más enfermedades, miseria y pérdidas económicas que cualquier otra zoonosis (Negash y Dubie, 2021).

Mientras la brucelosis se ha erradicado en la mayoría de los países desarrollados mediante los programas de control y la vacunación, sigue siendo una de las enfermedades zoonóticas más prevalentes del mundo, donde hay 500.000 nuevos casos de infección humana al año (Tesfaye *et al.*, 2021). La tasa de prevalencia asciende a más de 10 casos por cada 100.000 habitantes en los países que se consideran endémicos para esta enfermedad (Oliver y Palmer, 2014). Además, se le suma la falta de notificación de la enfermedad a pesar de ser una enfermedad de declaración obligatoria, lo cual hace que sea una enfermedad endémica (Negash y Dubie, 2021) y desatendida, además de un grave problema para salud pública y animal (Edao *et al.*, 2020). En los países en vías de desarrollo sigue incrementando la enfermedad por falta de recursos y programas de control. Estos programas de control incluirían la vacunación y posterior eliminación de los animales positivos. Se ha demostrado que la vacunación en el ganado ha reducido la brucelosis humana exitosamente y sería muy útil en países estos países (Oliver y Palmer, 2014).

4. OBJETIVOS

Etiopía es uno de los países donde el 80% de la población vive de la ganadería. Distintos estudios de diferentes partes del país indican que la brucelosis es una enfermedad muy extendida y que genera enormes pérdidas económicas. Sin embargo, se dispone de poca información de los factores de riesgo de la infección.

Por lo tanto, los objetivos de este estudio son:

- Calcular la seroprevalencia de brucelosis en bovino y ovino en Gondar, región de Amhara, mediante la prueba Rosa de Bengala.
- Analizar si existen relaciones estadísticamente significativas con factores de riesgo como el sexo y el tipo de explotación (según el destino del producto).
- Analizar las diferentes costumbres y maneras de trabajar que pueden influir en el impacto de la enfermedad en esta región y proponer una serie de medidas que pudieran ayudar a mejorar la situación actual.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Diseño del estudio

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Gondar, en la región de Amhara, en el nordeste de Etiopía. Gondar se encuentra a 12°36'37,2"N - 37°27'43,7"E y a 3000 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media máxima en verano de 30°C y una mínima de 11°C en invierno. Este estudio fue desarrollado gracias a la ayuda de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Gondar y los ganaderos locales. Se trata de un estudio transversal, para determinar la seroprevalencia del género *Brucella spp.* en la ganadería local. La recopilación de muestras y datos para el estudio se realizaron en los años 2018 y 2019.

5.2. Muestra de estudio

Los animales estudiados procedían de 25 granjas, del hospital veterinario y de la propia Universidad de Gondar. La muestra estudiada fue un total de 384 animales, de los cuales 136 eran ovejas y 248 eran bovinos, ambas especies no estaban vacunadas de *Brucella spp.* Dentro del ganado ovino, encontramos razas indeterminadas pero la morfología es compatible con las razas Awassi o Afar, como se ven en la Figura 1 y 2, respectivamente. En cuanto al bovino, dependiendo de si eran razas de carne o de leche, podíamos encontrar razas como la Frisona (Figura 3) y sus cruces, raza Afar, o Cebúes (Figura 4) y sus cruces. Los animales del estudio se agruparon en distintas categorías según la granja, especie y sexo.



Figura 1. Raza ovina Awassi.



Figura 2. Raza ovina Afar.



Figura 3. Raza bovina Frisona.



Figura 4. Raza bovina Cebú.

5.3. Trabajo de campo

Con el fin de diagnosticar las distintas especies de *Brucella spp.* (*melitensis* y *abortus*), se procedió con la extracción de sangre de los animales para su posterior análisis en el laboratorio. Para ello, se extrajo sangre de la vena yugular en ovinos (Figura 5) y en la vena coccígea en los bovinos (Figura 6). Para la extracción y conservación de la sangre en ambas especies se utilizó tubos envasados al vacío (*Vacutainer*) (BD, Madrid, España) que permanecieron en refrigeración hasta los análisis laboratoriales que se realizaron en los siguientes días.



Figura 5. Extracción de sangre de la vena yugular.



Figura 6. Extracción de sangre en vena coccígea.

Los días que se realizaron la recolección de muestras se complementó con un cuestionario que se propuso a los ganaderos, con la ayuda de los veterinarios que nos acompañaban para la traducción de las preguntas. Este cuestionario tenía como fin recopilar información sobre los conocimientos que tienen dichos ganaderos sobre la zoonosis y la seguridad alimentaria.

5.4. Trabajo de laboratorio

La prueba de elección que se ha usado para la identificación de *Brucella spp.* es la prueba Rosa de Bengala (SPINREACT, Girona, España). Esta prueba se puede usar tanto para analizar rebaños/manadas como para animales específicos, ya sean pequeños rumiantes, camélidos o bovinos (OIE, 2016). Esta prueba se realizó en los laboratorios de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Gondar.

El fundamento de esta prueba es la aglutinación en porta para detectar anticuerpos anti-Brucela en el suero del animal. Al identificar anticuerpos (IgG o IgM) se considera una prueba indirecta (SPINREACT, 2013).

El procedimiento para seguir de la prueba consiste en mezclar 50 µl de cada muestra sobre una placa esmaltada. A continuación, se deposita la misma cantidad de antígeno cerca de cada muestra e, inmediatamente después, mezclamos con cuidado el suero y el antígeno mediante un agitador rotatorio, hasta producir una muestra homogénea de aproximadamente 2 cm de diámetro. La mezcla debe agitarse suavemente durante 4 minutos a 80-100 r.p.m. Después de estos minutos se procede a la lectura. Dicha lectura se realizó mediante la examinación de la aglutinación. Se consideró positivo las muestras que tenían presencia de aglutinación, y negativo a la ausencia de aglutinación (SPINREACT, 2013; OIE, 2016).

5.5. Análisis estadístico

Con el objetivo de conocer la prevalencia de *Brucella spp.* en las poblaciones de bovinos y ovinos de la ciudad de Gondar, se realizaron tres tests de frecuencias Chi-Cuadrado. En los dos primeros, uno para bovinos y otro para ovinos, se estudió la relación entre la seropositividad a *Brucella spp.* y el sexo de los animales. En el tercero, se estudió la relación entre la seropositividad a *Brucella spp.* y el tipo de granja según el destino del producto, diferenciándose entre granjas de autoconsumo y granjas de venta al público.

Se asumió que existían diferencias significativas entre los grupos objeto de estudio cuando el p-valor resultado de los tests Chi-cuadrado era menor de 0,05.

6. RESULTADOS

Los resultados obtenidos del análisis realizado (Rosa de Bengala) para la especie ovina y la especie bovina en Gondar, región de Amhara, se encuentran en la Tabla 1 y Tabla 2, respectivamente. Del total de muestras examinadas en ovino y bovino, 24 y 95 fueron positivas a la prueba de Rosa de Bengala, respectivamente. La seroprevalencia de *Brucella spp.* para cada especie fue de 17,64% (95% CI: 0,02697773 – 1,12348444) en ovino y de 38,30% (95% CI: 0,3226169-1,3914805) en bovino. Tanto para la especie bovina como para la ovina, la relación entre el sexo de los animales incluidos en el estudio y ser positivo a *Brucella spp.*, no es estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Tabla 1. Resultados de la prueba Rosa de Bengala en ovinos machos y hembras para el diagnóstico indirecto de *Brucella spp.* en la región de Gondar, Etiopía.

	<u>POSITIVO</u>	<u>NEGATIVO</u>	<u>TOTAL</u>
<u>MACHO</u>	2	30	32
<u>HEMBRA</u>	22	82	104
<u>TOTAL</u>	24	112	136

Tabla 2. Resultados de la prueba Rosa de Bengala en bovinos macho y hembras para el diagnóstico indirecto de *Brucella spp.* en la región de Gondar, Etiopía.

	<u>POSITIVO</u>	<u>NEGATIVO</u>	<u>TOTAL</u>
<u>MACHO</u>	15	33	48
<u>HEMBRA</u>	80	120	200
<u>TOTAL</u>	95	153	248

Respecto del tipo de granja estudiada (Tabla 3), diferenciando entre granjas con venta al público y granjas de autoconsumo, la seroprevalencia fue de 36,54% para las granjas que venden los productos, y una prevalencia del 30,48% para las granjas de autoconsumo (95% CI: 0,9538451- 2,3165247). Así, el tipo de granja no tuvo un efecto estadísticamente significativo ($p>0,05$) sobre la seropositividad a *Brucella spp.*

Tabla 3. Resultados de la prueba de Rosa de Bengala para *Brucella spp.* dependiendo del destino del producto (venta y autoconsumo), en la región de Gondar, Etiopía.

	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
VENTA	72	125	197
AUTOCONSUMO	57	130	187
TOTAL	129	255	384

Según los resultados de las encuestas realizadas a los ganaderos (Anexo I), se observó que el 100% de los trabajadores y ganaderos realizaban el ordeño a mano, aumentando así la exposición a los patógenos. Además, a pesar de vivir estrechamente con los animales, aseguraban no poner en práctica otras medidas como el empleo de mascarillas, guantes o la limpieza de utensilios cuando se producía un aborto o en partos. Por otra parte, según las observaciones realizadas por el equipo de investigación, los partos se realizaban en condiciones de estabulación, con escasa o nula ventilación y sin la acción directa de la radiación ultravioleta del sol, lo cual fomentaba la supervivencia del patógeno. Por otro lado, el 100% de los encuestados aseguraba que se realizaban tratamientos térmicos a la leche (ebullición) previamente a su consumo, si bien desconocían el motivo y las consecuencias de no hacerlo.

7. DISCUSIÓN

La brucelosis es una de las enfermedades zoonóticas más importantes de Etiopía, el primer reporte de la enfermedad en el país se realizó en 1970 y se estima que el rango de prevalencia es del 1,5% al 22,6% (Tesfaye *et al.*, 2021). Asimismo, es una de las principales amenazas públicas y pérdidas económicas en la industria ganadera. A pesar de poderse diagnosticar mediante distintas pruebas serológicas como Rosa de Bengala, prueba de fijación de complemento o ELISA (Bifo *et al.*, 2020), en países en vías de desarrollo como Etiopía, sigue sin haber fondos suficientes para su diagnóstico y erradicación, lo que hace que sea más fácil su propagación por el país.

Distintos autores han demostrado evidencias de *Brucella spp.* en el ganado en distintas zonas de Etiopía. En la Tabla 4 y Tabla 5, quedan reflejadas las distintas prevalencias del ganado bovino y ovino, respectivamente, a lo largo del país.

Tabla 4. Resultados de diferentes estudios realizados sobre la prevalencia de *Brucella spp.* en ganado bovino en distintas zonas de Etiopía.

ZONA	BOVINO	ESTUDIO
Afar	5,7%	Negash y Dubie (2020)
Jijiga	3%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Borena	4,7%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
South Omo	3,4%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Sidama	1,8%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Gedeo	0,5%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Hadiya	3,5%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Zona Sitti	6,6%	Megersa <i>et al.</i> , (2011)
Sendafa	0,4%	Bifo <i>et al.</i> , (2020)
Jima	4,3%	Robi y Gelalcha (2020)

Tabla 5. Resultados de diferentes estudios realizados sobre la prevalencia de *Brucella spp.* en el ganado ovino en distintas zonas de Etiopía.

ZONA	OVINO	
South Omo	0%	Estudio de Sintayehu <i>et al.</i> , (2015)
Borena	2,2%	
Jijiga	0,1%	
Afar	1,8%	

En la Figura 7, se muestran las distintas regiones geográficas donde se han realizado los distintos estudios de prevalencia. En las regiones que no aparecen sombreadas se desconoce el estado de la enfermedad. Los datos obtenidos de distintos artículos reflejan una gran variedad de resultados según la zona. En cuanto a bovino, los valores más altos los encontramos en Afar y la Zona Sitti con una prevalencia de 5,7 % y 6,6% respectivamente. Estas dos áreas se encuentran en el norte de país, aunque también encontramos regiones como Borena con valores de 4,7% a pesar de estar en el sur. Los valores más bajos los encontramos en las regiones de Sendafa y Gedeo, con valores de 0,4% y 0,5% respectivamente. Estas zonas están muy próximas a las que han obtenido los valores más altos, por lo que el factor geográfico parece no ser el único involucrado.

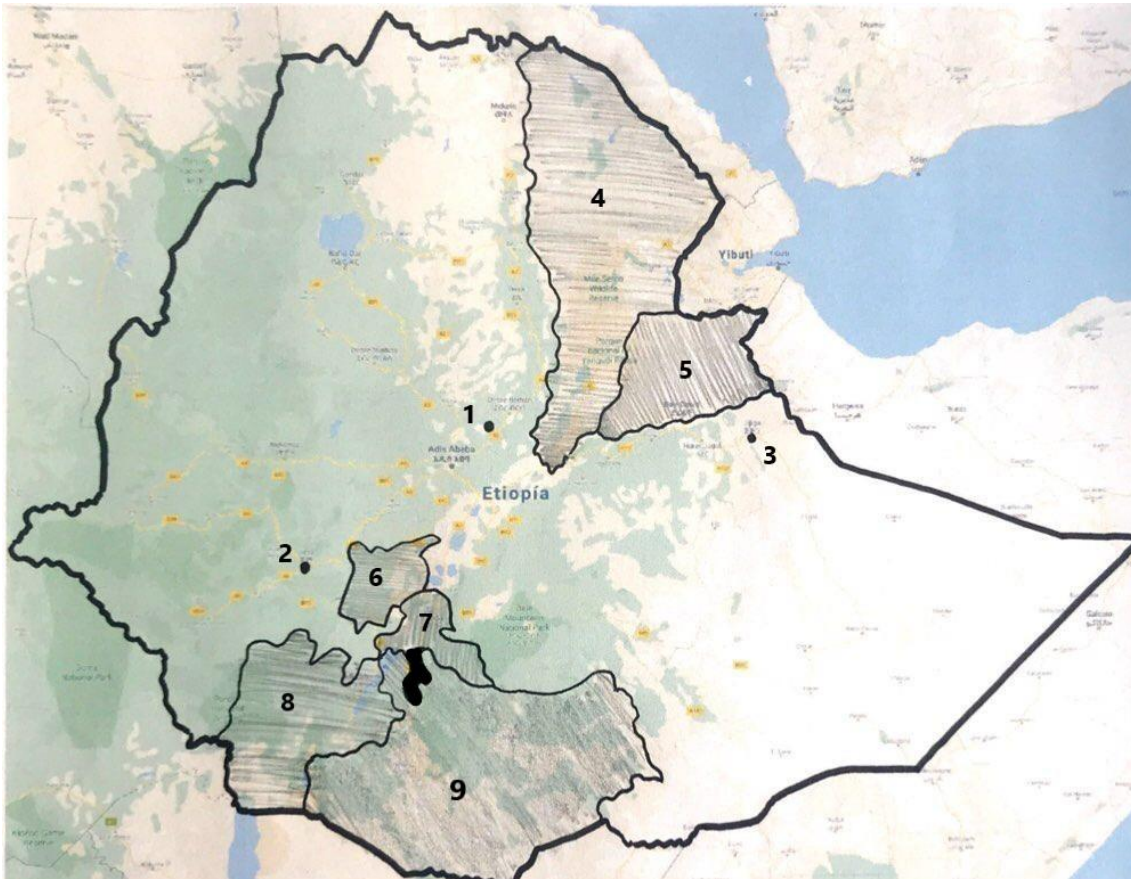


Figura 7. Mapa de Etiopía con las distintas zonas de estudio: Zonas indicadas con números: 1. Sendafa, 2. Jima, 3. Jijiga, 4. Afar, 5. Zona Sitti, 6. Hadiya, 7. Sidama, 8. Sur Omo, 9. Borena. La zona de color negro pertenece a Gedeo (Elaboración propia adaptado de Google Maps).

Autores como Bifo *et al.* (2020) sugieren que las diferentes seroprevalencias entre las distintas zonas de Etiopía pueden deberse a la diferencia agro-geográfica, las diferentes maneras de manejo y cría, al origen de los animales, los conocimientos de los ganaderos, las prácticas higiénicas en las granjas, y la disponibilidad de corrales de maternidad en el momento del parto. No obstante, a pesar de que nuestro estudio no encontró relación entre el sexo de los animales y ser positivo a *Brucella spp.*, Bifo *et al.* (2020) solo obtuvo animales hembras positivas. Esto puede deberse al hecho de que se examinaron más hembras que machos, o una segunda hipótesis en la cual alega que la hormona eritritol que se produce durante la preñez hace a las hembras más susceptibles a *Brucella spp.* (Kebede *et al.*, 2008). A pesar de la controversia en cuanto al metabolismo del eritritol, cada vez más estudios plantean la hipótesis de la preferencia del patógeno para metabolizar esta hormona como fuente de energía, desempeñando un papel en el tropismo de *Brucella spp.* para hembras gestantes. Sin embargo, la relación entre la hormona y el patógeno aún no se ha probado directamente en condiciones experimentales (Olsen y Palmer, 2014).

En el estudio que realizaron Megersa *et al.* (2011) se observó que las altas seroprevalencias se encontraban en las zonas con los sistemas de producción pastoril donde hay una alta movilidad del ganado, pastoreo de múltiples especies y hay un mayor número de animales por explotación. Las comunidades pastorales se caracterizan por la agrupación de hogares con la proximidad de los rebaños, esto hace que la interacción entre diferentes animales sea mayor (ya sea por los campos de pastoreo o por los puntos de agua), por lo que la transmisión de la enfermedad es más fácil. La movilidad del ganado también facilita las interacciones con la fauna salvaje, lo que hace aumentar la probabilidad de contraer la infección. Confirmando dicha teoría, Megersa *et al.* (2001) reportaron que las zonas de Sidama y Gedeo obtuvieron una baja prevalencia a causa del sistema de producción que practican. Ambas zonas son áreas de cultivo y como plano secundario tienen la ganadería, esto hace que los rebaños sean de menor número de animales y estén más separados geográficamente imposibilitando así el contagio.

Negash y Dubie (2020) apoyan la idea de que la alta seroprevalencia viene por el tipo de pastoreo entre las aldeas, pero, además, opinan que un tamaño grande de rebaño hace que aumente el potencial de exposición, especialmente después de un aborto aumentando el contacto en los puntos de alimentación y abrevaderos comunes que promueven la transmisión de organismos de *Brucella spp.* No obstante, también le atribuye la variabilidad de seroprevalencias en las distintas regiones del país a distintos factores como son las distintas pruebas que hay para diagnosticar la infección, la edad de los animales, el estado de gestación u a otras enfermedades reproductivas. Además, Negash y Dubie (2020) reportaron más casos positivos de machos (8,6%) que de hembras (3,7%) en *Brucella spp.*, alegando que esto se debe a que los machos tienen más probabilidad de contraer la infección ya que tienen mayor movilidad entre distintos rebaños porque se usan para la monta de las hembras. En nuestro estudio no solo no se ha encontrado esta relación positiva entre ser macho y ser seropositivo, sino que los resultados de seroprevalencia han sido notablemente menores que en este estudio. Esto puede deberse a que, teniendo una prevalencia muy baja, una diferencia de positivos entre machos y hembras tiene más importancia relativa que cuando los resultados son mayores.

El estudio realizado por Sintayehu *et al.* (2015) atribuye la baja prevalencia en ovino al bajo nivel de intensificación, las diferentes razas, tamaño del rebaño y a las pruebas que se emplean para el diagnóstico del patógeno.

Por último, hay que destacar, no solo la variabilidad de prevalencias entre las regiones, si no entre las especies. Robi y Gelacha (2020) sugieren que los factores medioambientales, las razas de animales y los sistemas de manejo están relacionados con la seropositividad en pequeños

rumiantes y, por lo tanto, es un riesgo para bovino, ya que ambas especies viven mezcladas. También podemos atribuir la mayor prevalencia en bovino a que hay mayor número (60,39 millones) (Bifo *et al.*, 2020) en comparación con ovino (29,64 millones) (Sintayehu *et al.*, 2015) en África.

En cuanto al conocimiento de la brucelosis por parte de los ganaderos, Edao *et al.* (2020) realizaron un cuestionario y concluyó que el 98% de los ganaderos no tenían conocimiento sobre la brucelosis. También indicó que el 84% de los participantes consumen leche cruda y el 47% consumen carne cruda.

7.1. Limitaciones del estudio

Nuestro estudio ha ido acompañado por una serie de limitaciones. Normalmente se combina la prueba de Rosa de Bengala con la prueba de fijación de complemento para maximizar la especificidad de la prueba y descartar los falsos positivos, ya que la prueba de Rosa de Bengala se usa por su coste barato, fácil uso y alta sensibilidad, y la prueba de fijación de complemento tiene una alta especificidad para identificar los falsos positivos (Megersa *et al.*, 2011). En nuestro caso solo pudimos realizar la primera prueba por coste y por tiempo para analizar las pruebas. Por ejemplo, Negash y Dubie (2021), obtuvieron una prevalencia del 11,9% al realizar la prueba de Rosa de Bengala, y la corrigieron al realizar la prueba de fijación de complemento y descartar los falsos positivos, y obtener una prevalencia del 5,7%.

Por otro lado, serían necesario posteriores estudios para corroborar cual habría sido la prevalencia en cuanto al aspecto zoonótico de la enfermedad. Edao *et al.* (2020), reportaron una prevalencia de 2,6% en humanos y habría sido interesante estudiarlo en nuestra región ya que se suele diagnosticar erróneamente y tratar como la malaria por la similitud de los síntomas en humanos (Ashenafi *et al.*, 2007) como son la fiebre, problemas articulares y complicaciones neurológicas, y participar así en un registro sobre la brucelosis humana ya que apenas hay estudios sobre ella.

8. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se han obtenido tras este estudio son las siguientes:

- La seroprevalencia de *Brucella spp.* en la ciudad de Gondar obtenida tras este muestreo fue de 17,64% en ovino y de 38,30% en bovino.
- Los factores de riesgo analizados (sexo de los animales y tipo de explotación según el destino del producto) no resultaron ser estadísticamente significativos en relación con los valores de prevalencia.
- Se encontraron prácticas de riesgo tanto en sanidad animal como en seguridad alimentaria, que junto a los datos de seroprevalencia encontrados, suponen un riesgo para la población. Las medidas que pueden ayudar a reducir la transmisión de la enfermedad serían la pasteurización de la leche, el trato higiénico de los animales y las campañas de erradicación de la enfermedad, incluyendo la vacunación de los animales.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alemayehu, G., Mamo, G., Alemu, B., Desta, H., Tadesse, B., Benti, T., Bahiru, A., Yimana, M., y Wieland, B. (2021). Causes and Flock Level Risk Factors of Sheep and Goat Abortion in Three Agroecology Zones in Ethiopia. *Frontiers in veterinary science*, *8*, 615310. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.615310>
2. Ashenafi, F., Teshale, S., Ejeta, G., Fikru, R., y Laikemariam, Y. (2007). Distribution of brucellosis among small ruminants in the pastoral region of Afar, eastern Ethiopia. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, *26*(3), 731–739. <https://doi.org/10.20506/rst.26.3.1781>
3. Bifo, H., Gugsa, G., Kifleyohannes, T., Abebe, E., y Ahmed, M. (2020). Sero-prevalence and associated risk factors of bovine brucellosis in Sendafa, Oromia Special Zone surrounding Addis Ababa, Ethiopia. *PLoS one*, *15*(11), e0238212. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238212>
4. Dadar, M., Tiwari, R., Sharun, K., y Dhama, K. (2021). Importance of brucellosis control programs of livestock on the improvement of one health. *The veterinary quarterly*, *41*(1), 137–151. <https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1894501>
5. Dixon, J., Gibbon, D. y Gulliver, A. (2001). *Farming Systems and Poverty. Improving farmers' livelihoods in a changing world*. Roma: Malcolm Hall.
6. Ducrotoy, M., Bertu, W. J., Matope, G., Cadmus, S., Conde-Álvarez, R., Gusi, A. M., Welburn, S., Ocholi, R., Blasco, J. M., y Moriyón, I. (2017). Brucellosis in Sub-Saharan Africa: Current challenges for management, diagnosis and control. *Acta tropica*, *165*, 179–193. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.10.023>
7. Edao, B. M., Ameni, G., Assefa, Z., Berg, S., Whatmore, A. M., y Wood, J. (2020). Brucellosis in ruminants and pastoralists in Borena, Southern Ethiopia. *PLoS neglected tropical diseases*, *14*(7), e0008461. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008461>
8. Kebede, T., Ejeta G. y Ameni G. (2008). Sero-prevalence of bovine brucellosis in smallholder farms in central Ethiopia (Wuchale-Jida district). *Rev Med Vet.* *159*(1), 3–9
9. McDermott, J. J., y Arimi, S. M. (2002). Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. *Veterinary microbiology*, *90*(1-4), 111–134. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(02\)00249-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(02)00249-3)
10. Megersa, B., Biffa, D., Niguse, F., Rufael, T., Asmare, K., y Skjerve, E. (2011). Cattle brucellosis in traditional livestock husbandry practice in Southern and Eastern Ethiopia, and its zoonotic implication. *Acta veterinaria Scandinavica*, *53*(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-24>

11. Negash, W., y Dubie, T. (2021). Study on Seroprevalence and Associated Factors of Bovine Brucellosis in Selected Districts of Afar National Regional State, Afar, Ethiopia. *Veterinary medicine international*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8829860>
12. Olsen, S. C., y Palmer, M. V. (2014). Advancement of knowledge of Brucella over the past 50 years. *Veterinary pathology*, 51(6), 1076–1089. <https://doi.org/10.1177/0300985814540545>
13. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2012). Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales. Roma. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/i2910s/i2910s.pdf>
14. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2008). Brucelosis. Recuperado de: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/brucelosis/>
15. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2013). Brucelosis. París. Recuperado de: <https://www.oie.int/doc/ged/D13939.PDF>
16. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2016). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Brucellosis. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELL.pdf
17. Redacción de Diario Veterinario. (12 de junio de 2021). Nuevos casos de brucelosis ovina y caprina en España. *Diario Veterinario*. Recuperado de <https://www.diarioveterinario.com/t/2934032/nuevos-casos-brucelosis-ovina-caprina-espa%C3%B1a-teruel>
18. Reglamento en ejecución (UE) 2021/620 de la comisión de 15 de abril de 2021 por el que se establecen normas para la aplicación del Reglamento (UE) 2016/429 del Parlamento Europeo y del Consejo relativas a la aprobación del estatus de libre de enfermedad y el estatus de libre de enfermedad sin vacunación de determinados Estados miembros, zonas o compartimentos de estos en lo que respecta a determinadas enfermedades de la lista y a la aprobación de los programas de erradicación de dichas enfermedades de la lista. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Bruselas. 15 de abril de 2021.
19. Robi, D. T., y Gelalcha, B. D. (2020). Epidemiological investigation of brucellosis in breeding female cattle under the traditional production system of Jimma zone in Ethiopia. *Veterinary and animal science*, 9, 100117. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100117>
20. Sere, C. y Steinfeld, H. (1996). *World livestock production systems: current status, issues and trends*. Roma: FAO Animal Production and Health Paper.

21. Sintayehu, G., Melesse, B., Abayneh, D., Sintayehu, A., Melaku, S., Alehegne, W., Mesfin, S., De Blas, I., Casal, J., Allepuz, A., Martin-Valls, G., Africa, T., y Abera, K. (2015). Epidemiological survey of brucellosis in sheep and goats in selected pastoral and agro-pastoral lowlands of Ethiopia. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 34(3), 881–893. <https://doi.org/10.20506/rst.34.3.2403>
22. SPINREACT. (2013). Rosa de Bengala. Aglutinación en porta. Recuperado de [http://www.spinreact.com/files/Inserts/Serologia/SGIS07 -
Ref. 1200901 Rosa Bengala 04-2013.pdf](http://www.spinreact.com/files/Inserts/Serologia/SGIS07-_Ref.1200901_Rosa_Bengala_04-2013.pdf)
23. Tesfaye, A., Dejene, H., Admassu, B., Kassegn, T. A., Asfaw, D., Dagnaw, G. G., y Bitew, A. B. (2021). Seroprevalence of Bovine Brucellosis in Ethiopia: Systematic Review and Meta-Analysis. *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)*, 12, 1–6. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S289721>

10. ANEXOS

10.1. ANEXO I: Modelo de encuesta realizada a los ganaderos sobre sanidad animal y seguridad alimentaria

Proyecto de Cooperación Internacional

Salud Pública y Sostenibilidad Medioambiental en sistemas ganaderos en Etiopía: Control de zoonosis y formación en seguridad alimentaria

ENCUESTA GENERAL

1. Nombre del ganadero:
2. Hombre/Mujer
3. Edad:
4. Número de personas que viven en su casa. Descripción (abuelos, padres, hijos... varios hijos casados...)
5. Dibujar la casa y describirla:
6. Número de animales que posee y especie:
7. ¿Tienen veterinario?
8. ¿Realiza trabajos al margen de la actividad ganadera? ¿Agricultura? ¿Otros?
9. ¿Cómo les afecta el cambio climático?
10. Frecuencia con la que asiste al mercado:
11. Asistencia y distancia a la escuela:
12. Número de móviles en la casa:
13. ¿Cómo cargan los móviles? (foto si posible)
14. ¿Para qué utilizan los móviles principalmente?
15. Describir los problemas principales según sus palabras:

ENCUESTA ESPECÍFICA

16. ¿Cuál es el sistema de producción utilizado (intensivo, extensivo...)?
17. ¿Cómo son las instalaciones de la explotación? ¿Tiene buena ventilación? ¿Sobre qué duermen los animales?
18. ¿Cómo, cuándo y con qué realizan la limpieza de las explotaciones?
19. ¿Existe algún tipo de control de residuos en las explotaciones?
20. ¿Tienen problemas de sequía en la explotación? ¿Cómo los combate?

21. ¿Qué clase de pienso les da a los animales? ¿Con qué frecuencia?
22. ¿Siguen un plan de vacunación? Indicar cuál:
23. ¿Desparasitan? Indicar producto y frecuencia:
24. ¿Cómo manejas un parto difícil?
25. ¿Qué haces con placentas y fetos abortados?
26. ¿Cómo identifican los animales enfermos?
27. Si identifican animales enfermos, ¿Qué hacen con ellos?
28. ¿Existe algún programa de erradicación para alguna enfermedad? Si es así, ¿para qué enfermedades y con qué medidas?
29. ¿Cuáles son las principales zoonosis que afectan al ganado? ¿Toman medidas para evitar el contagio?
30. ¿Existe algún tipo de control en el uso de antibióticos?
31. ¿Qué productos obtiene de esos animales?
32. En relación con el ordeño de los animales, ¿Cómo obtiene la leche del animal (ordeño manual, mecánico...)?
33. ¿Se sigue una rutina de ordeño correcta?
34. ¿Se realizan análisis de la leche?
35. ¿Dónde recogen la leche recién ordeñada? ¿Cómo la almacenan?
36. ¿Cuál es la media de litros de leche/día?
37. ¿La leche que va para consumo humano recibe algún tratamiento (térmico, depurativo...)?
38. ¿Cómo se realiza la recogida de huevos?
39. En caso de producción de carne, ¿realizan algún tipo de inspección ante/postmortem? ¿Trasladan los animales a algún lugar para el sacrificio?
40. ¿Existe algún tipo de registro para llevar a cabo la trazabilidad del producto?
41. ¿Mantienen la cadena de frío del producto? ¿Refrigeran?
42. ¿Se lavan las manos para manipular el alimento?
43. ¿Cocinan cerca de los animales?
44. ¿Con qué lavan los utensilios de cocina?
45. ¿Cuáles son los ingresos de la explotación?
46. ¿Cuáles son los gastos principales de la explotación?