

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA MEDIANTE LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA EN LA REGIÓN PASCO DISTRITO DE SIMÓN BOLÍVAR, COMUNIDAD CAMPESINA DE UCRUCANCHA

TESIS

PRESENTADO POR:

LUIS JAVIER BAYLON SAMANIEGO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO

HUÁNUCO – PERÚ

2016

INDICE

	Pág.
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO TEORICO	4
1.1 Antecedentes de Investigación	4
1.2 Brucelosis	5
1.3 Etiología	6
1.4 Periodo de incubación	6
1.5 Reservorios naturales	6
1.6 Factores de riesgo	7
1.7 Transmisión	7
1.8 Epidemiología	8
1.9 Diagnóstico y signos clínicos	9
1.10 Diagnostico serológico	10
1.11 Pruebas de diagnóstico serológico	10
1.12 Prueba de rosa de bengala	14
1.13 Prueba de fijación del complemento	15
1.14 Medidas de prevención y control	16
II. MARCO METODOLOGICO	20
2.1 Lugar de estudio	20
2.2 Tipo de nivel de investigación	21

2.3	Materiales	21
2.4	Metodología	23
2.5	Análisis estadístico	26
III.	RESULTADOS	28
IV.	DISCUSION	35
V.	CONCLUSIONES	37
VI.	RECOMENDACIONES	37
VII.	REFEERNCIAS BIBLIOGRAFICAS	38
VIII.	ANEXOS	44

RESUMEN

El presente trabajo de investigación evaluó la prevalencia de la brucelosis bovina causada por la *Brucella abortus* en la Región de Pasco Distrito de Simón Bolívar, Comunidad campesina de Ucrucancha. Para lo cual se tomaron muestras de sangre de 342 bovinos (se tuvieron en cuenta la edad y el sexo de los bovinos) de dicha comunidad campesina, obteniéndose los sueros, los que fueron analizados mediante la prueba de campo de Rosa de Bengala, no encontrándose animales reactores positivos a dicha prueba, lo cual nos permite concluir que la Brucelosis bovina no se encuentra presente en la comunidad campesina de Ucrucancha.

Palabras claves: Brucelosis bovina, *Brucella abortus*, Rosa de Bengala, Cerro de Pasco.

AGRADESIMIENTOS

A, Dios por que me ha dado el espíritu de seguir siempre adelante a pesar de todos los tropiezos que he tenido y enfrentado.

A, mi familia por haberme dado siempre su apoyo incondicional de alguna u otra forma y por haberme guiado hacia el camino del bien.

A, mi asesor el Dr. Luis Flores Monge por su gran apoyo y orientación hacia la finalización de mi trabajo.

Al Dr. José Luis Vargas Garcia y al Bach. Marco Durand Torres por su apoyo desinteresado en la ejecución de mi trabajo.

Al Dr. Marce Pérez Saavedra y al Dr. Anselmo Canches Gonzales por su gran apoyo en la orientación de mi trabajo de investigación.

Así mismo expreso mi agradecimiento a todas aquellas personas q de alguna u otra forma colaboraron para cumplir mi objetivo.

DEDICATORIA

A, mis padres Lucho y Edilbertina quienes en todo momento me brindaron su apoyo y comprensión y ha quienes debo esta meta que hoy he alcanzado.

A, mis hermanos con quienes quiero compartir este logro.

A, mis docentes quienes se han tomado el arduo trabajo de transmitirme sus diversos conocimientos.

INTRODUCCION

La Brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa y de distribución mundial, que posee gran impacto tanto en la salud pública como en la producción pecuaria, constituyendo una barrera hoy más real que potencial, para el comercio e intercambio nacional e internacional de animales y de subproductos de origen animal, lo cual afecta la economía de los países que aún no han podido erradicar. (Arestegui et al., 2001).

Las estimaciones oficiales sobre las pérdidas anuales por brucelosis bovina en América Latina son aproximadamente US\$ 600 millones, originadas por la disminución de la producción de carne, leche y de los valores de venta de los animales infectados. (Gil y Samaritano, 2000). Se estima que la infección ocasiona una pérdida de 20 a 25% en la producción de leche, por la reducción del periodo de lactancia debido al aborto y la concepción demorada. (Acha y Szyfres, 2003).

Además de la pérdida de producción de leche, hay pérdidas de terneros por abortos en estadios de gestación avanzados, aumento de la mortalidad de neonatos, nacidos débiles, bajo peso al destete y pérdida de reproductores de alto valor genético.

Esto es muy importante en los rebaños de carne, donde los terneros representan la única fuente de ingreso. (Radostits et al., 2002).

Su impacto sobre la salud pública está asociado por una parte de actividades laborales asociados con el manejo y manipulación de animales y por otra como enfermedad de transmisión alimentaria por el consumo de leche, quesos frescos y otros derivados lácteos contaminados. La brucelosis causa la fiebre Malta en el

ser humano, siendo considerada por los organismos internacionales como zoonosis más difundida del mundo. (Gil y Samaritano, 2000). La importancia de la enfermedad en la personas es una justificación suficiente para su erradicación. (Radostits et al., 2002).

El Perú cuenta con un programa sanitario de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina desarrollado por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) establecido en el Reglamento para el Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina, aprobado por el Decreto Supremo N° 033-2000-AG del 28 de junio de 2000, donde la prueba del anillo en leche (Ring Test) podrá emplearse al inicio de la campaña para la detección rápida de establos infectados. Asimismo, será empleada para mantener la vigilancia epidemiológica de la brucelosis en áreas o establos libres (3 pruebas con 4 meses de intervalo). La prueba diagnóstica de campo para la Brucelosis bovina es Rosa de Bengala, la cual será realizada por el Médico Veterinario que participa en el Programa de Control y Erradicación, o por laboratorios autorizados. En caso de animales reactores positivo a la prueba Rosa de Bengala, se utilizarán otras pruebas diagnósticas confirmatorias más sensibles y específicas como Fijación de Complemento y/o ELISA. (D.S. 033-2000-AG).

La Región Pasco es una zona ganadera que cuenta con ganado bovino de alto valor genético. Además no está considerada como una zona libre de brucelosis bovina. La ganadería vacuna es tipo extensiva contemplando los cruces de razas cebuinas (Brahman, Santa Gertrudis, Nellore y Gyr) con europeas (Angus, Brown Swiss y Holstein y Criollas) y; el tipo de reproducción se realiza por inseminación y monta.

Por lo tanto es necesario un monitoreo de los animales para conocer la prevalencia de la enfermedad en la ganadería bovina de carne, leche y doble propósito de la Región Pasco. Es así que el objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de brucelosis bovina en la Región Pasco.

La realización del presente estudio se justifica desde el punto de vista técnico – científico para delimitar áreas, territorios libres o no de Brucelosis, además nos permitirá brindar al consumidor nacional alimentos inocuos de origen vacuno, aumentar la competitividad del sector pecuario en el mercado internacional, evitar el contagio de la enfermedad al ser humano; además para establecer las medidas de vigilancia sanitaria y control que permita el mantenimiento y sostenibilidad del “status sanitario”.

I. MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION

1.1.1. Antecedentes Internacionales

Sanchez en su investigación en la comunidad de Pesillo-Ecuador trabajo con una población de 275 animales muestreados en los 10 sectores de la comunidad de Pesillo, obtuvo una prevalencia de Brucelosis de 2,18% con 6 casos positivos del total de una población de animales muestreados, mediante examen serológico de las prueba Rosa de Bengala con un 83% de Sensibilidad y un 99% de Especificidad confirmando la capacidad que tiene esta prueba para detectar la presencia de casos positivos y negativos de la población total del estudio. (Sánchez, 2012)

1.1.2. Antecedentes Nacionales

Huguet en la provincia de Canta en su investigación encontró 2 sueros positivos a prueba Rosa de Bengala de los 486 sueros analizados procedentes de los siete distritos que represente la provincia de Canta. De estos, un animal dio positivo a la prueba de Fijación de Complemento. El animal pertenecía al distrito de Santa Rosa de Quives. Según el análisis de simulación beta, el valor de la prevalencia promedio de los animales muestreados fue de 0,21% con un intervalo de confianza de 0,09 a 0,60%. (Huguet et al., 2005)

Villar en su investigación en la provincia de Huánuco. De un total de 384 sueros analizados, procedentes de los 10 distritos de Huánuco, resultaron positivo a Brucelosis Bovina 3 sueros dando una

seroprevalencia de 0,78%, mediante la prueba tamiz, Rosa de Bengala (RB) prueba en placa y las pruebas confirmatorias de aglutinación lenta en tubo (SAT) y de 2-mercaptoetanol (2-ME), en los distritos de la provincia de Huánuco que corresponden a bovinos de los distritos de Chinchao, Churubamba y Santa Maria del Valle. (Villar, 2001).

Nolorbe en su investigación en el Distrito de Campo Verde Provincia de Coronel Portillo, Región Ucayali, trabajo con una población total de 355 animales, se encontraron 3 muestras de suero positivas a la prueba. Se puede afirmar que existe una prevalencia de 0,84% para la prueba Rosa de Bengala. (Nolorbe, 2012).

Pajuelo en su investigación sobre prevalencia de brucelosis bovina trabajo la Región Pasco con un población total de 600 animales de los cuales, se encontraron 12 muestras positivas a la prueba de Rosa de Bengala lo que representa una prevalencia del 2% de los 17 Distritos incluidos en la investigación en la Región Pasco. (Pajuelo C., 2014)

1.2. BRUCELOSIS

Es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano que afecta a los bovinos alterando su reproducción. Se caracteriza fundamentalmente por producir abortos. (Bustamante et al., 2009).

Desde el punto de vista zoonotico, la brucelosis es importante por sus repercusiones negativas en las condiciones de salud de los trabajadores vinculados en el manejo de hatos ganaderos y con el faenamiento de ganado, al entrar al contacto con animales infectados y para la población que consume productos contaminados (leche y

derivados). (Agencia ecuatoriana de aseguramiento de la calidad del agro, 2009).

1.3. ETIOLOGIA

La enfermedad de ganado vacuno es causada exclusivamente por *Brucella abortus*.

El género *Brucella* está formado por bacterias gran-negativas, que se observan al microscopio como cocobacilos de 0,5 a 1,5 μm de largo, intracelulares facultativos, inmóviles y aerobios, no formadores de esporas, muy resistentes a la desecación lo que contribuye a que puedan permanecer viables durante largo tiempo en el ambiente o en los alimentos, como leche, mantequilla y queso. La pasteurización destruye estas bacterias. (Suarez, 2001).

1.4. PERIODO DE INCUBACION

El periodo de incubación es de 30 a 60 días; sin embargo, la infección en el ganado se caracteriza por adoptar una forma crónica. Entre los factores que favorecen su presentación se considera la edad, sexo, la etapa de gestación, la vía de infección la resistencia del hospedador y la persistencia de la infección. Una vez infectados, los animales excretan las bacterias durante los procesos de aborto o parto, llegándose a encontrar en cantidades de hasta 10 millones de *Brucellas/g* en órganos de feto abortado, placenta, exudado vaginal, calostro y leche. (Martínez, 2008).

1.5. RESERVORIOS NATURALES

Una hembra infectada es el medio más importante para la diseminación de la enfermedad, tanto para el rebaño al que pertenece

como para otros rebaños donde sea movilizado el animal. (Bustamante et al., 2009).

Varias especies de *Brucella* han sido aisladas de gran variedad de animales tales como bovinos, caprinos, ovinos, suinos, camélidos, perros, roedores y recientemente en mamíferos marinos como los cetáceos y pinnípedos. Entre estas la *Brucella abortus*, el agente causal de la brucelosis bovina, es una de las especies de mayor distribución mundial y junto con la *Brucella mellitensis* y *Brucella suis*, las que mayor riesgo representan para la salud humana. (Maldonado, 2007)

1.6. FACTORES DE RIESGO

La prevalencia de esta enfermedad se ve influenciadas por las condiciones socioeconómicas de cada país, región o localidad. En países en vías de desarrollo, en los cuales se utiliza un sistema tradicional de manejo de loa animales y los sistemas sanitarios son deficientes o inexistentes, esta enfermedad afecta a la población en general, en tanto que en países desarrollados, esta enfermedad tiene un carácter profesional. Entre las profesiones que poseen alto riesgo de contaminación, están las relacionadas con el campo o agro, médicos veterinarios, ingenieros agrónomos, trabajadores agrícolas, trabajadores de camales o mataderos, así como el personal de laboratorio. (Gil, A; Samantino, L, 2000).

1.7. TRANSMISIÓN

La enfermedad se transmite por la ingestión, penetración por la conjuntiva, a través de la piel o por la contaminación de la urbe durante el ordeño. El pastoreo en áreas contaminadas, el consumo de agua

contaminada con secreciones, membranas fetales inyectadas y el contacto con los fetos abortados o neonatos, se consideran las formas más frecuentes de propagación. Existe una transmisión congénita provocada por la infección dentro del útero, y si el feto no muere, puede permanecer latente toda su vida en la ternera; esto se explica por el fenómeno de tolerancia inmunológica: el animal da pruebas serológicas negativas en su primer parto, momento en el cual comienza a desechar el microorganismo. La transmisión horizontal suele presentarse por la contaminación directa y la infección por moscas, perros, ratas, garrapatas, calzado, ropas y otros objetos infectados; esto no se considera de importancia, comparado con el número de microorganismos desechados en abortos membranas y líquidos fetales. (Gasque, 2008).

1.8. EPIDEMIOLOGIA

Esta enfermedad es de gran importancia en salud humana, por tratarse de una zoonosis. En humanos, la infección ocurre por consumo de leche sin pasteurizar, además de que es de tipo ocupacional, ya que se observa en granjeros, veterinarios y carniceros que manejan animales o productos contaminados con la bacteria. La infección afecta en todas las edades, pero persiste mayormente en animales sexualmente maduros, en los que las pérdidas de productividad pueden ser de gran importancia, principalmente por el descenso de la producción láctea. En vacas destinadas a la producción de carne tiene gran importancia económica, ya que los becerros representan la única fuente de ingresos. Lo mismo ocurre por desecho de vacas, tanto en hatos lecheros como en productores de carne y en los casos de muertes por metritis aguda

seguida de retención placentaria. Se observa la concentración más elevada de Brucella en el contenido del útero gestante, en el feto y en las membranas fetales; estructuras que deben considerarse como fuentes importantes de la infección. (Gasque, 2008).

1.9. DIAGNOSTICO Y SIGNOS CLINICOS

El diagnóstico de la brucelosis se realiza mediante la utilización de distintos métodos, los que de acuerdo con las características de la enfermedad, permiten determinar la situación de la misma en el hombre, los animales y en el medio ambiente, aunque cabe sospechar la presencia de brucelosis en caso de signos clínicos como abortos, la confirmación exige pruebas serológicas, seguidas de las pruebas de laboratorio prescritas para aislar e identificar a la bacteria. (Mancera, 2001).

1.9.1. DIAGNOSTICO CLINICO

En el caso de la Brucelosis bovina el diagnóstico clínico no es de utilidad, por ser una enfermedad que va a cursar sin ningún clínico que se pueda considerar patognomónico de la enfermedad, el único signo va a ser el aborto y según el análisis de laboratorio y los resultados de diversos proyectos de investigación llevados a cabo se sabe que existen muchas otras patologías de mayor prevalencia que pueden presentar el mismo signo clínico, como es el caso de Leptospirosis y la Neosporosis. Aunque la presencia de abortos siempre es una alerta a tener en cuenta. (Acha y Pzifres, 2003).

En toros la prevalencia de Epididimitis y Prostatitis son signos compatibles de la brucelosis, el semen de mala calidad también es característico de la enfermedad. (OIE, 2008).

1.10. DIAGNOSTICO SEROLOGICO

El diagnostico serológico es de elección para diagnosticar Brucelosis Bovina, porque se han desarrollado técnicas de laboratorio de suficiente especificidad y sensibilidad a un bajo costo y rapidez de la realización que las hace muy adecuadas a esta función, existen numerosas pruebas para el diagnóstico serológico de brucelosis: aglutinación en placa, en tubos, antígeno buferado en placa (BPA), Rosa de Bengala, fijación del complemento, 2 Mercaptoetanol, Rivanol, ELISA indirecto y de competición. (Mancera, 2001).

Se basan en el principio de aglutinación de los anticuerpos con antígenos a pH bajo y se dividen en dos tipos de pruebas: las pruebas primarias o de screening y las pruebas secundarias o de confirmación. (Acha y Pzifres, 2003).

1.11. PRUEBAS DE DIAGNOSTICO SEROLOGICO

1.11.1. Prueba de Aglutinación rápida en placa. “Rosa de Bengala” (RB).

También llamada prueba del antígeno tamponado por la capacidad de mantener estable un pH determinado. La prueba “Rosa de Bengala” (RB), es una reacción de aglutinación sobre la lámina, que utiliza por un lado un antígeno constituido de una suspensión de *Brucella abortus* (cepa 19) inactivadas y coloreadas por Rosa de Bengala, en un medio tamponado ($\text{pH } 3,5 \pm 0,05$), y por otro lado el suero a investigar. (OIE, 2002)

Esta prueba es capaz de detectar anticuerpos de tipo Ig M e Ig G, aunque el pH ácido, permite una alta detección de las IgG1,

reduciendo las uniones inespecíficas con otras inmunoglobulinas.
(Bercovich, 2000).

1.11.2. Prueba de Antígeno Buferado en Placa. (BPAT).

La prueba BPAT es similar a la prueba de aglutinación rápida en placa RB, es una prueba de aglutinación con alta sensibilidad; utilizada como prueba tamiz. Emplea como antígeno una suspensión al 11% de *Brucella abortus* cepa 1119-3 en solución salina y amortiguada con ácido láctico e hidróxido de sodio y pH de 3,8%. (Miranda et al., 2001).

1.11.3. Prueba de Fijación de Complemento. (CFT).

Es una prueba de gran sensibilidad y especificidad, detecta cuantitativamente los anticuerpos producidos luego de la infección. Pese a su laboriosidad, es relativamente económica.

(Cobos et al., 2001). Posee mayor sensibilidad analítica, ya que es capaz de detectar concentraciones muy bajas de IgG1, las cuales predominan en la infección de *Brucella* sp. (Cobos y Colaboradores, 2001).

Utiliza un antígeno, preparado a partir de la cepa lisa de *Brucella abortus* cepa 19 o la 1119-3. (OIE, 2002).

1.11.4. Prueba de aglutinación lenta en tubo, o de Wright. (SAT).

Esta prueba, basada también en la aglutinación de una suspensión de *Brucella* inactiva, enfrenta por un lado, una cantidad constante de antígeno, y por otro, diluciones crecientes de suero a investigar. Pone en evidencia las Ig M, y en menos grado Ig G, y puede ser empleada para detectar infecciones agudas, los títulos de los anticuerpos

presentes en el suero, son reportados de forma cuantitativa. (Bercovich, 2000; Terradas et al, 2001).

Se puede observar el fenómeno de prozona (resultados negativos en las primeras diluciones, y positivos en los siguientes), debido al exceso de Anticuerpos bloqueantes, que impiden la unión de los Ac aglutinantes con el Ag. La prueba posee ventajas como: (1) ser la prueba que detecta lo más rápido posible los Ac aglutinantes, (2) gracias a la utilización de diluciones progresivas del suero, se puede apreciar el título completo de aglutinación de cada muestra, hecho que se diferencia de la prueba de Huddleson (rápida en placa) en que título se limita a una dilución de 1/500. (Bercovich, 2000).

1.11.5. Prueba de aglutinación en presencia de 2-Mercaptoetanol.

Esta prueba es una modificación de la prueba de aglutinación de Wright (SAT), en la que se emplea una solución de 2-mercaptoetanol. Este reactivo, tiene la finalidad de reducir las uniones disulfuro de las Ig M. (FAO & OMS, 1986).

La eficiencia de esta prueba, frente al ELISA para la detección de Ig G, está en duda, pues se ha determinado que este reactivo a más de disminuir las Ig M, también afecta las Ig G. (Ariza, 2002).

1.11.6. Prueba de Rivanol.

En 1964 Anderson desarrollo la prueba de rivanol; es un método cuantitativo, rápido y complementario cuando resultan animales positivos a la prueba de Rosa de Bengala. Detecta anticuerpos del tipo Ig G, relacionados con un estado de infección activo o con enfermedad crónica. Emplea células completas de *Brucella abortus*, donde el LPS

es un antígeno inmunodominante de la superficie de la Brucella lisa. (Pachame, 2001).

El Rivanol (un colorante de acridina), precipita la albumina y los anticuerpos de tipo Ig M, los cuales predominan en el caso de una vacunación o infección primaria. En el sobrenadante permanecen los anticuerpos, de tipo Ig G los cuales se encuentran en mayor cantidad en estimulaciones inmunogénicas posteriores. (Leal y Martínez, 2001).

1.11.7. Prueba de Coombs.

Es una prueba útil para el diagnóstico de la brucelosis crónica, demuestra la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes de tipo Ig G. es una prueba muy laboriosa ya que, requiere centrifugación y lavados sucesivos de tubos negativos de la aglutinación y , la adición posterior de globulina anti-humana, seguido de incubación y la lectura. (Dejer & Colaboradores, 2003).

1.11.8. Técnica de ELISA Competitiva

Para la cuantificación de anticuerpos, se establece una competencia por el antígeno entre los anticuerpos del suero problema y otros anticuerpos, de la misma especificidad, fijados a los pocillos de la placa. De esta forma, cuantas más inmunoglobulinas haya en la muestra, menos antígeno habrá quedado disponible para unirse a los anticuerpos absorbidos a la placa. Elisa competitivo es el empleado en la detección de anticuerpos detectados: Diferencia anticuerpos Ig G de los Ig M, contra antígenos de Brucella, que utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra epitopos localizados en la cadena O del lipopolisacárido de las cepas bacterianas en la fase lisa, solo

presentes en la infección activa. Este test ofrece ventajas sobre otras técnicas en cuanto a la detección de animales en estadios tempranos de infección, mejora la diferenciación entre la respuesta vacunal y al de infección, y disminuye la presencia de falsos positivos por reacciones inespecíficas cruzadas con otros microorganismos. (Gómez, 2006).

1.12. PRUEBA DE ROSA DE BENGALA

Es una técnica serológica, de aglutinación en placa, cualitativa, para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*. Es una técnica de screening, aprobada y de referencia por la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). La aglutinación ocurre cuando el suero estudiado contiene anticuerpos contra *Brucella abortus* y es enfrentado contra el antígeno de Rosa de Bengala, en iguales proporciones. Cuyo fundamento se basa en el fenómeno de aglutinación, este puede ser observado luego de 4 minutos. Antígeno: Suspensión al 8% de *Brucella abortus* cepa 1119-3 teñida con Rosa de Bengala y ajustada a pH 3,6 Anticuerpos que identifica: Detecta inmunoglobulinas de tipo IgG en mayor cantidad y en menor cantidad, IgM. (MAGAP, 2003).

Varios investigadores han señalado la alta sensibilidad y especificidad de la Rosa de Bengala lo que unido a su fácil manipulación y rápida lectura hacen que la misma sea de gran utilidad en el diagnóstico masivo de la brucelosis. De este modo recomendaron su utilización en el programa de control o y erradicación

de la brucelosis por ser simple, fiel y económico. (Plommet, 1992 y Priadi, 1992).

En investigaciones realizadas en Argentina donde emplearon la Rosa de Bengala junto a pruebas de Aglutinación en el diagnóstico de brucelosis porcina detectándose, una mayor efectividad con la Rosa de Bengala en un 22.0%. (Delgado y Centorbi, 1990).

1.13. PRUEBA DE LA FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO

La prueba permite la detección y cuantificación relativa de los anticuerpos específicos antibrucelicos capaces de fijar el complemento (Ig G₁ y algunas Ig M, específica), cuya presencia en determinados niveles posee una gran correlación con el estado de "Animal infectado".

La fijación de complemento es una prueba confirmativa ampliamente usada y aceptada pese a la complejidad de su realización y a la necesidad de buenas instalaciones y personal entrenado para titular y mantener los reactivos adecuadamente. Existen muchas variaciones de FC, pero la prueba más adecuada se realiza en forma de microtitulación. Para la incubación de suero, antígeno y complemento, se puede utilizar fijación en caliente o en frío: 37°C durante 30 minutos o 4°C durante 14-18 horas. Varios factores influyen en la elección del método: la actividad anticomplementaria de muestra de suero de baja calidad es más evidente con la fijación en frío, mientras que a 37°C aumenta la frecuencia e intensidad de las prozonas, y se deben probar varias diluciones para cada muestra.

Se han propuesto varios métodos para fijación de complemento que utilizan diferentes concentraciones de eritrocitos de oveja (GR) frescos o

conservados (normalmente se recomienda una suspensión al 2,5% o al 3%). Los GR están sensibilizados con un volumen igual al suero anti-GR de conejo diluido hasta contener varias veces (en general de dos a cinco veces) la concentración mínima necesaria para producir un 100% de lisis de los GR es presencia de una solución titulada de complemento de cobayo. El ultimo se titula independientemente (en presencia o ausencia de antígeno, según el método) para determinar la cantidad de complemento necesaria para producir el 50% o el 100% de lisis de GR sensibilizados por unidad de volumen de una suspensión estándar; estas se definen como la unidad hemolítica de complemento al 50% o al 100%/ dosis hemolítica mínima, respectivamente. (SENASA, 2009).

1.14. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

1.14.1. Prevención

Las medidas de prevención frente a la enfermedad, deben ir encaminadas a eliminar, por una parte las situaciones que impliquen riesgo de contagio y a favorecer por otra, la inmunidad. Las medidas básicas de prevención que deben implementarse según Blasco, (2001) son:

- El material abortivo se destruirá con cal viva y los instrumentos y superficies se desinfectaran.
- Cuarentena de animales se hará cuando entren animales nuevos procedentes de otras explotaciones o de mercado. Lo ideal es completar las granjas con animales descendientes de las mismas o bien con los adquiridos de granjas libres de infección.

- Sistema rotacional de pastos, se ha comprobado que el incremento en la concentración de ganado en un territorio determinado aumenta la posibilidad de contagio. Se deben separar los animales de distinta edad y condición.
- Sacrificio de animales enfermos y entierros de aborto, nunca se deben de echar restos de abortos y animales muertos a los perros para su alimentación, ni tampoco se deben abandonar en el campo o enterrarlos sin previo tratamiento. Los restos se deben tratar primero con cal viva o incinerarlos y a continuación depositarlos en una fosa común cubriéndolos con tierra.
- Supresión de las cubriciones temporalmente en presencia de infección, las hembras abortadas se dejan sin cubrir seis meses y se cubren posteriormente mediante inseminación artificial, ya que el semental puede ser portador contaminante a través del coito.
- Utilización de ropa protectora: botas, mandiles, guantes, mascarillas, gafas protectoras.
- No consumir leche ni productos lácteos sin pasteurizar, si no se cumplen las garantías sanitarias legalmente vigentes.
- Desinfección de todas las personas a la entrada y salida de la explotación, se debe a que el hombre actúa como transmisor de la enfermedad al visitar distintas ganaderías, por lo que se debe cumplir adecuadas medidas higiénico-sanitarias.

1.14.2. Control

- Incrementar la inmunidad de la población, lo cual se logara con el uso de vacunas.
- Establecer un sistema de detección de animales infectados y el descarte de los mismos.
- Implementar medidas de manejo e higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias presentes en el ambiente.
- Mantener en forma estable la producción y la economía del establecimiento. (Miño y Pico, 2003).

1.14.3. Vacunas

En el mercado nacional existen 2 tipos de vacuna: La Cepa 19 y La RB51, la vacuna juega un papel muy importante en el control de brucelosis evitando su difusión y reduciendo su impacto económico. Para prevenir los abortos infecciosos, es mantener altos niveles de inmunidad en forma permanente. (Ávila, 2001)

1.14.3.1. Vacuna Cepa 19

La vacunación debe realizarse en terneras de los seis a ocho meses de edad como dosis única, esto confiere inmunidad duradera, y no se recomiendan dosis posteriores, también se puede aplicar a los animales de mayor edad sin una respuesta duradera de anticuerpos, puede provocar abortos. (Blasco, 2001).

La vacuna cepa 19, puede producir efectos secundarios, particularmente cuando se aplica en animales adultos. Produce un 2% a 3% de abortos e infecciones mamarios persistentes con excreción

activa en leche, además puede provocar infección en el hombre tras una inoculación accidental. (OIE, 2008).

La reducción de la dosis inoculada, disminuye la duración de la intensidad de la respuesta serológica, y por ende disminuye en el grado de protección conferido. (Blasco, 2001).

1.14.3.2. Vacuna RB51

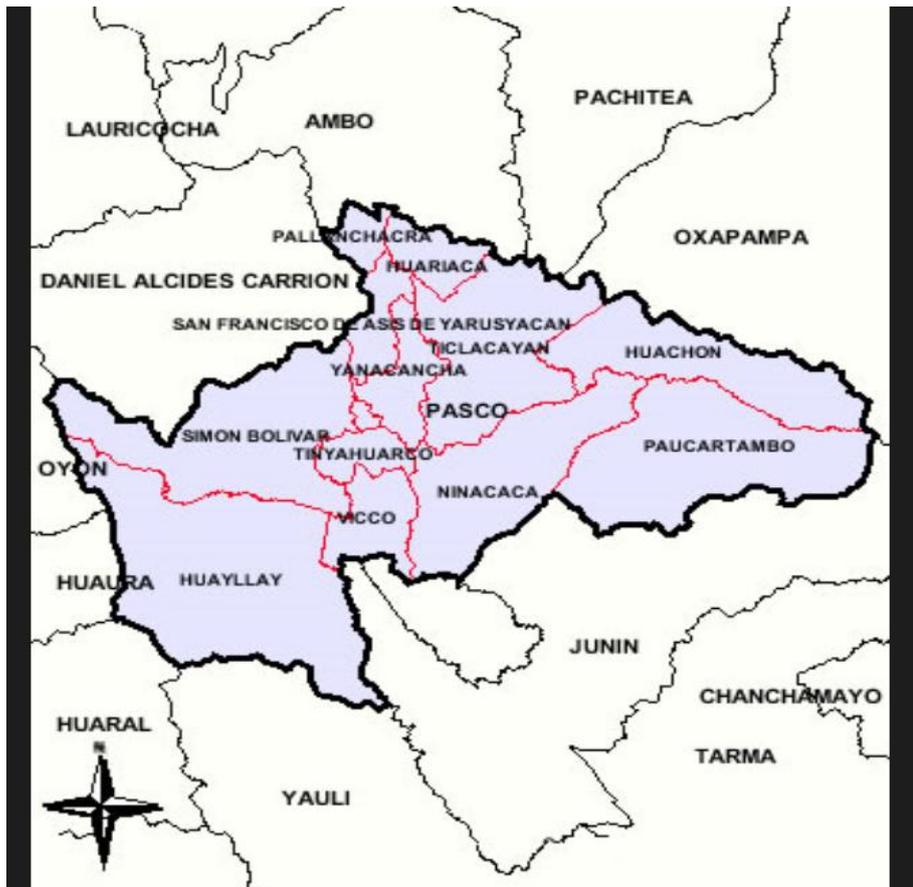
Este tipo de cepas, no induce reacciones serológicas cruzadas en los test diagnósticos clásicos que utilizan antígenos en la fase lisa. La cepa viva RB51, es un mutante, derivado de la cepa lisa virulenta *Brucella abortus* 2308; esta cepa induce un inmunidad frente a la *Brucella abortus* en ratones y ganado bovino, sin producir ninguna interferencia en las pruebas clásicas de diagnóstico serológico, al no inducir anticuerpos frente al LPS, en los animales vacunados. Caracterizada por su escasa capacidad de inducir placentesis, abortos y localizaciones mamarias, también induce inmunidad frente a un amplio rango de especies de *Brucella*. (OIE, 2008).

En México uno de los experimentos de protección realizados en bovinos y en condiciones controladas, frente a un desafío con la cepa virulenta *Brucella abortus*, la vacuna RB51 confirmó un nivel de protección de alrededor del 87 % aproximadamente siete a trece meses; algo inferior al conferido por la cepa 19 que fue del 95%. (Blasco, 2001).

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1. LUGAR DE ESTUDIO.

La *ejecución*, conducción y evaluación de la investigación se realizó en la Comunidad Campesina de Ucrucancha perteneciente al Distrito de Simón Bolívar Provincia de Cerro de Pasco de la Región Pasco, La zona presenta altitudes entre los 4,343msnm, con una superficie de 697.15 Km². Limita por el norte con la provincia de Yanahuanca, por el Sur con la Laguna de Pun Run, por el Este con la comunidad campesina de San Pedro de Racco y Oeste con el Distrito de Hoyon temperatura promedio anual entre 6°C como max y 3.8 como min. Una precipitación pluvial anual máxima de 1254.80 mm. Y 513.40 mm. Como mínimo tiene una topografía accidentada en la parte alta y plana en la parte baja y comprende los pisos ecológicos, suni y puna en cuanto al clima corresponde al tipo paramo muy húmedo sub altiplano tropical.



La prueba para el diagnóstico serológico “Rosa de Bengala” se realizó en las instalaciones del local comunal de la comunidad campesina de Ucrucancha.

2.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION

Aplicada, descriptiva transversal por que el estudio se realizó en un tiempo determinado.

2.3. MATERIALES

2.3.1. Material biológico

- Suero sanguíneo de Bovino

2.3.2 Material y equipos de laboratorio.

- Crioviales. Presentación 1ml 100 Und.

- Antígeno Rosa de Bengala. Presentación frasco 5ml (160 dosis)
- Micropipeta de con rango de 30ul.
- Tips
- Mondadientes
- Lamina de vidrio con cuadrantes.
- Agua destilada
- Caja de tecnopor y refrigerantes.
- Refrigeradora.
- Guantes.
- Detergente

2.3.3. Materiales de campo

- Tubos al vacío. Presentación, caja / 100 Unid.
- Aguja Vacutainer. Presentación, caja / 100 Unid.
- Gradilla.
- Alcohol y Algodón.
- Lapicero tinta indeleble.
- Tablero acrílico
- Fichas de registro de datos.
- Cámara fotográfica.
- Botas.
- Mameluco.
- Soga.
- Naricera.

- Marcadores

2.4. METODOLOGIA

2.4.1. Coordinación con los ganaderos Beneficiarios del proyecto

Se realizó reuniones con los ganaderos de la comunidad campesina de Ucrucancha, donde se capacitaron sobre la importancia de la Brucelosis bovina y sus efectos negativos en la producción, productividad y reproducción, y el levantamiento oficial del ganado vacuno existente, con la finalidad de determinar con exactitud el número de animales que serán parte de la investigación, este dato fue fundamental para la adquisición del producto biológico (Rosa de Bengala) necesario para cubrir a toda la población.

2.4.2. Inscripción de hatos

Se inscribió en fichas, donde se consignó los datos del propietario, ubicación, población de animales, identificación (nombres) de los animales muestreados, responsable del muestreo.

2.4.3. Tamaño de la muestra

Se trabajó con 342 vacunos de la raza Brown Swiss de la Comunidad Campesina de Ucrucancha.

CUADRO 1. Número de Productores / vacunos muestreados en la Comunidad Campesina Ucrucancha/Octubre, 2014

PRODUCTORES	MUESTRA	SEXO	
		MACHOS	HEMBRAS
Esteban Cotrina Rojas	17	1	16
Silvestrina Rapri Luis	25	4	21
Lucila Sánchez Hurtado	16	1	15
Fidel Panizo Zambrano	24	4	20
Andrés Ayala Rivera	27	7	20
Valerio travezaño Abar	24	2	22
Pedro Torres Mandujan	18	3	15
Mequias Peñaloza Guz	25	3	22
Nelson Rapri Yacolca	52	10	42
Nemecia Travezaño	55	6	49
Hugo Rapri Luis	24	3	21
Víctor Paucar Cotrina	35	5	30
TOTAL	342	49	293

FUENTE: Elaboración propia.

2.4.4. Recolección de muestras

La recolección de la muestra se realizó por punción vena coccígea de la base de la cola, previa desinfección con algodón y alcohol, para lo cual se utilizó agujas vacutainer n° 20 de 1 y luego la sangre se recolectó en tubos al vacío de 10ml registrando a cada tubo con el nombre del animal.

2.4.5. Procesamiento de la muestras

Las muestras se dejaron reposar en plano inclinado (45°) por un espacio de 3 a 6 horas hasta lograr la separación del suero sanguíneo, se procedió a colocar en viales identificados adecuadamente. Los

sueros fueron conservados en congelación (-4°C) hasta momento antes de realizarse la prueba serológica de la Rosa de Bengala.

2.4.5.1. Protocolo de la prueba de Rosa de Bengala

Los antígenos utilizados para el diagnóstico de brucelosis fueron adquiridos del Instituto Nacional de Salud (Centro Nacional de Productos Biológicos) y corresponden a la Cepa 1119-3 de *Brucella abortus*.

En el presente trabajo de investigación se realizó bajo la supervisión del personal experimentado y especialista en Sanidad Animal de SENASA – Pasco, teniendo en cuenta el siguiente protocolo:

1. Ordenar los sueros para correlacionarlos con cada cuadrante de la placa de vidrio.
2. Las muestras de suero y el antígeno deben estar a una temperatura ambiente (18-26°C).
3. Verificar que la lámina de vidrio este limpia y seca.
4. Calibrar la micropipeta a 30ul, colocar el tip.
5. Depositar 30ul de una muestra de suero en un cuadrante de lámina de vidrio. Descartar el tip (se utilizara un tip distinto por cada muestra de suero)
6. Ocupar los cuadrantes de la placa en orden horizontal de izquierda a derecha para las muestras siguientes.
7. Agitar el frasco del antígeno antes de usar para homogenizar y luego depositar 30ul del reactivo al lado de cada muestra de suero.

8. Mezclar el suero con el reactivo utilizando un mondadientes distintos para cada muestra formando una zona circular de aproximadamente 2cm de diámetro.
9. Inmediatamente concluida la mezcla poner reloj control tiempo en 4min.
10. Girar la lámina durante 4 minutos (10-12 movimientos por minuto), en un ángulo que no signifique desplazamiento de la mezcla.
11. El resultado de la prueba se lee a los 4 minutos, sobre un fondo blanco. El resultado de la lectura del diagnóstico se lee como positivo o negativo.

INTERPRETACION DE LA MUESTRA

Positivo: Debido a la reacción de aglutinación se observa la presencia de grumos, aun siendo finos (no confundir con impurezas). La prueba de Rosa de Bengala es un procedimiento cualitativo de observación macroscópica de aglutinación antígeno-anticuerpo, evidenciando Ig G₁ en suero positivos.

Negativo: ausencia de grumos con un color rosa uniforme traslucida al paso de la luz.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.5.1. Prevalencia

Para la determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en la comunidad campesina de Ucrucancha se realizó con la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{Casos positivos}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

$$P = \frac{0}{342} \times 100$$

$$P = 0$$

III. RESULTADOS:

Los sueros analizados fueron reactores negativos a la prueba de rosa de bengala para Brucelosis. En tal sentido la sero prevaencia fue 0% (cuadro 2).

CUADRO 2. Número de animales muestreados por productores, resultados (%) de la prueba de Rosa de Bengala.

PRODUCTORES	MUESTRA	RESULTADO	
		POSITIVO	NEGATIVO
		%	%
Esteban Cotrina Rojas	17	0	100
Silvestrina Rapri Luis	25	0	100
Lucila Sánchez Hurtado	16	0	100
Fidel Panizo Zambrano	24	0	100
Andrés Ayala Rivera	27	0	100
Valerio travezaño Abar	24	0	100
Pedro Torres Mandujan	18	0	100
Mequias Peñaloza Guz	25	0	100
Nelson Rapri Yacolca	52	0	100
Nemecia Travezaño	55	0	100
Hugo Rapri Luis	24	0	100
Víctor Paucar Cotrina	35	0	100
TOTAL	342	0	100

Fuente : Elaboración propia

Posible mente estos resultados están influenciados por numerosos factores.

En el presente trabajo es posible que el microorganismo nunca estuvo presente en los animales estudiados, lo cual llevaría a que no haya anticuerpos contra dicha enfermedad.

Otro factor puede ser el tipo de sistema de explotación pecuaria, los animales que son criados al pastoreo en grandes extensiones de terreno, a esto podemos añadir el tipo de manejo, densidad de la población y mejoramiento genético.

Los pastos en recintos oscuros y con alta densidad de animales favorecen la propagación de la enfermedad, mientras que la infección tiende a bajar cuando ocurre al aire libre, es decir ganado al pastoreo y baja densidad (Acha y Szyfres, 1998).

Si el mejoramiento genético sea efectuado sin utilizar reproductores foráneos o si las poblaciones son nativas, hay probabilidades que no se encuentre brucelosis bovina (Villavicencio 2000).

De la muestra de animales sometidos a la prueba de Rosa de Bengala, el número de machos es 49 y de hembras es de 293 en el cual no hubo resultados positivos (Cuadro 3).

CUADRO 3. Número de animales muestreados por productores, resultados (%) de la prueba de Rosa de Bengala según sexo.

PRODUCTORES	MUESTRA	SEXO		RESULTADOS	
		MACHOS	HEMBRAS	POSITIVO	NEGATIVO
				%	%
Esteban Cotrina Rojas	17	1	16	0,00	100,00
Silvestrina Rapri Luis	25	4	21	0,00	100,00
Lucila Sánchez Hurtado	16	1	15	0,00	100,00
Fidel Panizo Zambrano	24	4	20	0,00	100,00
Andrés Ayala Rivera	27	7	20	0,00	100,00
Valerio travezaño Abar	24	2	22	0,00	100,00
Pedro Torres Mandujan	18	3	15	0,00	100,00
Mequias Peñaloza Guzman	25	3	22	0,00	100,00
Nelson Rapri Yacolca	52	10	42	0,00	100,00
Nemecia Travezaño	55	6	49	0,00	100,00
Hugo Rapri Luis	24	3	21	0,00	100,00
Víctor Paucar Cotrina	35	5	30	0,00	100,00
TOTAL	342	49	293	0,00	100,00
%	100	14.32	85.67	0	100

Fuente: Elaboración propia

En la variable edad se encontró animales entre 4 a 8 años 40,93% (140/342) seguido de mayores de 8 años 22,51% (77/342) en lo cual no hubo resultados positivos (Cuadro 4).

CUADRO 4. Número de animales muestreados por productores, resultados (%) de la prueba de Rosa de Bengala según edad.

PRODUCTORES	MUESTRA	EDAD (AÑOS)				RESULTADOS	
		< 2	2 A 4	4 A 8	> 8	POSITIVO %	NEGATIVO %
Esteban Cotrina Rojas	17	5	5	6	1	0	100
Silvestrina Rapri Luis	25	5	2	12	6	0	100
Lucila Sánchez Hurtado	16	3	10	2	1	0	100
Fidel Panizo Zambrano	24	4	7	7	6	0	100
Andrés Ayala Rivera	27	5	2	12	8	0	100
Valerio travezaño Abar	24	5	3	14	2	0	100
Pedro Torres Mandujan	18	4	9	4	1	0	100
Mequias Peñaloza Guzman	25	2	2	17	4	0	100
Nelson Rapri Yacolca	52	12	8	20	12	0	100
Nemecia Travezaño	55	5	15	19	16	0	100
Hugo Rapri Luis	24	3	0	11	10	0	100
Víctor Paucar Cotrina	35	4	5	16	10	0	100
TOTAL	342	57	68	140	77	0	100

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los factores de riesgo evaluado, sistema de crianza, los productores emplean el sistema extensivo en un 100%, (12/12), y 0% en los sistemas intensivo y semiextensivo, (CUADRO 5).

CUADRO 5. Factores de riesgo evaluados a productores, resultados; Sistema de crianza.

PRODUCTOR	SISTEMA DE CRIANZA					
	EXTENSIVO	%	INTENSIVO	%	SEMI-EXTENSIVO	%
Esteban Cotrina Rojas	X	8.3	0	0	0	0
Silvestrina Rapri Luis	X	8.3	0	0	0	0
Lucila Sánchez Hurtado	X	8.3	0	0	0	0
Fidel Panizo Zambrano	X	8.3	0	0	0	0
Andrés Ayala Rivera	X	8.3	0	0	0	0
Valerio travezaño Abarca	X	8.3	-	0	0	0
Pedro Torres Mandujan	X	8.3	0	0	0	0
Mequias Peñaloza Guzmán	X	8.3	0	0	0	0
Nelson Rapri Yacolca	X	8.3	0	0	0	0
Nemecia Travezaño Rapri	X	8.3	0	0	0	0
Hugo Rapri Luis	X	8.3	0	0	0	0
Víctor Paucar Cotrina	X	8.3	0	0	0	0
TOTA		100%		0		0

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto al factor de riesgo evaluado, crianza de animales domésticos, se desarrolla la crianza mixta de animales siendo alpacas, ovinos, cabras, aves, perros y cerdos (Cuadro N° 6).

CUADRO 6. Factor de riesgo evaluado a productores, resultado; crianza de animales domésticos.

PRODUCTOR	CRIANZA DE ANIMALES DOMÉSTICOS						
	Vacunos	Alpacas	Ovinos	Cabras	Aves	Perros	Cerdos
Esteban Cotrina Rojas	17	50	150	0	0	2	0
Silvestrina Rapri Luis	25	0	0	0	0	3	0
Lucila Sánchez Hurtado	16	100	50	0	0	1	0
Fidel Panizo Zambrano	24	68	106	0	0	2	0
Andrés Ayala Rivera	27	24	38	0	11	1	0
Valerio travezaño Abarca	24	30	0	12	0	1	3
Pedro Torres Mandujano	18	0	0	0	0	2	0
Mequias Peñaloza Guzmán	25	59	150	0	16	1	0
Nelson Rapri Yacolca	52	28	30	0	22	1	2
Nemecia Travezaño Rapri	55	0	73	0	0	2	0
Hugo Rapri Luis	24	38	56	0	0	2	0
Víctor Paucar Cotrina	35	20	0	0	13	2	3
TOTAL	342	417	653	12	62	20	8

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los factores de riesgo evaluado, Si los campesinos cuentan con asesoramiento técnico, 75% si cuentan con asesoramiento tecnico, 25% no cuentan con asesoramiento técnico, (CUADRO 7).

CUADRO 7. Factores de riesgo evaluados a productores, resultados; sobre si cuentan con asesoramiento técnico.

PRODUCTOR	Cuenta con asesoramiento técnico			
	SI	%	NO	%
Esteban Cotrina Rojas	X	8.3	-	0
Silvestrina Rapri Luis	X	8.3	-	0
Lucila Sánchez Hurtado	X	8.3	-	0
Fidel Panizo Zambrano	-	0	X	8.3
Andrés Ayala Rivera	X	8.3	-	0
Valerio travezaño Abarca	X	8.3	-	0
Pedro Torres Mandujan	X	8.3	-	0
Mequias Peñaloza Guzmán	-	0	X	8.3
Nelson Rapri Yacolca	X	8.3	-	0
Nemecia Travezaño Rapri	-	0	X	8.3
Hugo Rapri Luis	X	8.3	-	0
Víctor Paucar Cotrina	X	8.3	-	0
TOTA	9	75%	3	25%

Fuente: Elaboración propia.

IV. DISCUSIÓN:

El análisis de los resultados permite determinar que la prevalencia de la brucelosis bovina en la comunidad campesina de Ucrucancha es de 0%. La brucelosis bovina en la Región Pasco es menor de 1%, estos datos son corroborando según el SIGSA (Sistema Integrado de Gestión en Sanidad Animal) en el año 2009 en la región Pasco, la prevalencia fue de 0.048%. **(SIGSA, 2009)**

Comparado con otra zona del Perú, como en la provincia de Cantalima usando 486 bovinos, se encontró 2 sueros positivos a Rosa de Bengala; de estos, un animal dio positivo a la prueba de Fijación de Complemento, estimándose una prevalencia de 0.21%, debido a las características de explotación mixta (vacas y cabras), donde hay continuo movimiento de animales dentro de la provincia, lo que posibilita la entrada de la bacteria, lo que no sucede en el presente estudio, ya que difiere en el sistema de explotación; es decir, los bovinos no comparten los pastoreo ni las instalaciones con las cabras. **(Huguet et al., 2005).**

Sin embargo otra investigación realizada en la cuenca lechera del Valle de Mantaro en 360 bovinos, mediante 3 pruebas de aglutinación (Prueba de Aglutinación en Placa, Rosa de Bengala y ELISA) cuya prevalencia fue de 0.28% usando la prueba de ELISA y de 0.83% con la prueba Rosa de Bengala **(Cruz, 1996)**, valor que difiere con el presente estudio, ya que para la prueba Rosa de Bengala fue de 2% y para Fijación de Complemento fue de 0%. Esto se explica porque la mencionada zona, el sistema de explotación es bovinos de leche; es decir, el tipo de crianza

son intensivas y extensivas diferentes al sistema de explotación en el presente estudio; por ende, se abarco a bovinos de leche, carne y doble propósito con el tipo de crianza intensivas y semiextensivas. Sin embargo, otra investigación realizada en la misma zona, usando 876 vacas mediante la prueba Rosa de Bengala se encontró 0% de prevalencia **(Palacios, 1999)**; esto hace suponer que el control epidemiológico de la enfermedad tuvo éxito, ya que la zona se encuentra dentro del programa de control y erradicación de brucelosis bovina, y probablemente no hay propagación de la enfermedad.

V. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo no se encontró reactores positivos a brucelosis en los 342 sueros de los bovinos evaluados mediante la prueba de rosa de bengala. Por tanto se concluye que la brucelosis bovina no está presente en las muestras estudiadas.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda seguir con estudios de monitoreo en los diferentes establos del centro poblado de ucrucancha ya que podría introducirse algunos reproductores foráneos los cuales podrían presentar la enfermedad.
- Debido a la importancia que tiene esta enfermedad zoonotica en la salud pública, es necesario crear conciencia en los productores de realizar estas pruebas diagnósticas anualmente.
- Cuando se quieren introducir animales nuevos, al hato sería importante que se les realice la prueba de Rosa de Bengala para el diagnóstico de Brucelosis, para así asegurarse que no se estén introduciendo estas enfermedades dentro del rebaño.
- Para llegar al éxito esperado en el programa de control y erradicación, se deberá contar con un programa de vigilancia epidemiológica y el sacrificio de los animales reactores.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. **ACHA, P.; SZYFRES, B.** Brucellose. In: mondiale de la sante animale, O. Volumen 1: (Ed), Zoonoses et maladies transmissibles communes a' 1' homme et aux animaux. bactérioses et mycoses. Paris. Nueva Editorial Interamericana; 2003. P. 43.
2. **ARESTEGUI, M.; C. GUALTIERI; J. DOMINGUEZ; G. SCHAROVSKY.** El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. Veterinaria México; 2001. P.131-139.
3. **ARIZA, J.** "Brucelosis": Aspectos actuales de principal interés. Control Calidad SEIMC. 2002. http://www.seimc.Org/control/revi_Sero/brumcli.htm1-4.
4. **ÁVILA, JORGE.** "Enfermedades abortivas". Clínica de bovinos. 2001. p.7, 8. www.universidadautonomamexico.gov.mx/introduccion/contenido/clinica_veterinaria.pdf.
5. **BUSTAMANTE URRUTIA, G. A., & CEDEÑO MENDOZA, P.** "Incidencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Santa Ana de la Provincia de Manabí"; 2009. Recuperado el 16 de 12 de 2012, de <http://repositorio.utb.edu.ec:8080/handle/123456789/271>
6. **BERCOVICH, Z.** The use of skin delayed-type hypersensitivity as an adjunct test to Diagnose brucellosis in cattle: a review. Veterinary Quarterly. 2000. p.123-130.

7. **BLASCO, J.** "Profilaxis Medica de la Brucelosis en los rumiantes": las vacunas clásicas y las nuevas vacunas. En: Diagnostico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México; 2001.p.158-176.
8. **COBOS, L.; PEÑA, G.; ROMERO, C.; VELASQUEZ, F.; VELASQUES, M.; VICENCIO, M.; VILLA, J.; LUNA, J.; MATEOS, A.; BETANCOURT, X.** "Fijación de Complemento". En: Diagnostico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México; 2001. P.56-79.
9. **CRUZ, J.** "Prevalencia de Brucelosis bovina en la cuenca lechera del Valle del Mantaro" Tesis Lima, Perú: Médico veterinario. FMV-UNMSM; 1996.
10. **DAJER, A.; GUTIERREZ, E.; SIERRA, E.; CAMARA, E.** Evaluación de la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligados a enzima de competencia (ELISA-C) para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Revista biomédica. Mexico.2003; 14(1): 23-26.
11. **DELGADO, M. G.; CENTORBI, O. P.** "Estudio serológico de la brucelosis en áreas rurales de la provincia de San Luis, Argentina. Rev. Medicina Veterinaria de Buenos Aires. 1990; 71 (2): 74-78p.
12. **FAO & OMS.** Comité Mixte FAO/OMS d'Experts De La Brucellose. Sixieme Rapport. Organisation Mundial de la Sante, Geneve (Suisse); 1986.
13. **GASQUE GOMEZ, R.** enciclopedia Bovina. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); 2008. Recuperado el 14 de Diciembre de 2012, de <http://es.scribd.com/martin221082/d/55407879-Encicloedia-Bovina-UNAM>.

14. **GIL, A.; SAMARITANO, L.** Brucelosis. En zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Livestock Policy Discussion Paper N° 2. Food and Agriculture Organization; 2000.p. 23-30.
15. **GOMEZ, LUCIA.** “Manual de Inmunología Veterinaria “. Madrid. Editora Pearson. Educación, S.A.; 2006. P. 325-327.
16. **HUGUET T, C.; DELGADO C, A.; CALLE E, S.; GONZALES Z, A.** “Cuantificación de *Brucella sp.* en bovinos de la provincia de Canta, Lima”. Rev. Investig. Vet. Perú v.16 n.2 Lima Julio/Diciembre. 2005 rivepsm@gmail.com. UNMSM-FMV.
17. **LEAL, M.; MARTINEZ, O.** “Prueba de Rivanol”. En: Diagnostico de Brucelosis animal. Díaz, E.; Hernández, L.; Valero, G.; & Arellano, B.; México; 2001. P. 82-85.
18. **MALDONADO DIAZ, C. A.** “Sintomatología de la Brucelosis Bovina” por Grupos Etarios. Buenos Aires-Argentina; 2007. <http://www.dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/415/1/tesis.pdf>.
19. **MANCERA, A.** “Prueba de antígeno Brucelar amortiguado o de tarjeta”. En: diagnóstico de brucelosis animal. Díaz, E.; Hernández, L.; Valero, G.; & Arellano, B.; México; 2001. P. 80-81.
20. **MARTINEZ CORTEZ, G.** “Brucelosis Bovina”. 2008. Recuperado el 18 de Diciembre de 2012. <http://www.vetzoo.umich.mx/phocadownload/Tesis/2008/Marzo/brucelosis>.
21. **MIÑO, B.; PICO, V.** “Estudio de la Presencia de Brucelosis Bovina, en explotaciones ganaderas del Cantón Mejía”. [Tesis Doctoral]. Quito-

- Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2003.
22. **MIRANDA, A.; BAEZ, E.; TARABLA, H.** Valor predictivo de una modificación a la técnica del BPA para el diagnóstico de brucelosis bovina y concordancia con el BPA tradicional; 2001.
23. **NOLORBE MORENO, J. M.** “Serorevalencia de Brucelosis (Brucella abortus), en ganado bovino cruzado en el Distrito de Campo Verde-Provincia de Coronel Portillo, Región Ucayali”. Huánuco-. Trabajo de investigación. UNHEVAL-FMVZ; 2012.
24. **OIE.** Organización Mundial de Sanidad Animal “Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina”. 2002. Disponible en: www.senasa.gob.pe
25. **OIE.** Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para animales terrestres. Capítulo 2.3.4. 2008. Disponible en: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.03 BOVINE BRUCELL.pdf](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf).
26. **OIE.** Organización Mundial de Sanidad Animal. Brucelosis Bovina. Código Sanitario para los animales domésticos [Internet]. 2010. Disponible en: http://web.oie.int/esp/normes/mcode/es_chapitre_1.11.3.pdf.
27. **PACHAME, A.** Revista del Colegio de Veterinarios, de Argentina; 2001.p.50-56.
28. **PAJUELO QUIROZ, C.** “Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala en la Región Pasco”. Trabajo de investigación. UNHEVAL-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Huánuco- 2014.

29. **PALACIOS, Q. J.** Incidencia de Brucelosis bovina en la cuenca lechera de Valle de Mantaro. [Tesis]. Huánuco -Perú.: Universidad Nacional "Hermilio Valdizan". Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria; 1999.
30. **PLOMMET, M.** "Survie the Brucellaabortus dans le lisier the bovinos. Desinfection par le xylene". Ann Rech. Vet.; 1992.p.234.
31. **PRIADI, U. N.; HIRST, R. G.; SOEROSO, M.; KOESHARYONO, C.** "Infección de *Brucela suis* como zoonosis en Java". Balai Penelitian Veteriner. Bogor. Indonesia; 1992.
32. **RADOSTITS, O; GAY, C; BLOOD, D; HINCHELIFF, K.** Medicina veterinaria - tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol I. 9ªed. Madrid, España. Ed. Mc Graw-Hill interamericana; 2002. P.1025-1035.
33. **SANCHEZ PEÑA, C. A.** "Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante el Método Card- Test (Rosa de Bengala) en la Comunidad de Pesillo Cayambe – Ecuador". [Tesis]. Sede Quito. Para optar el título de Ingeniera Agropecuaria. Universidad Politécnica Salesiana; (2012.p.78)
34. **SENASA.** Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. <http://www.ManualBrucelosis/SENASA/202009.pdf>.
35. **SUARZ, F.** Introducción. En: Diagnostico de Brucelosis animal. Díaz, E.; Hernández, L.; Valero, G.; & Arellano, B.; México; 2001. P.1-7.
36. **SIGSA.** Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal, software que contiene la información oficial utilizada por el SENASA; 2009

37. **VILLAR VICTORIO, E. S.** "Prevalencia de Brucelosis Bovina en la provincia de Huánuco". Trabajo de investigación. UNHEVAL-FMVZ; 2001.

VII. ANEXOS



Figura 1. Fotografía de la toma de muestra de sangre de la región ano caudal.



Figura 2. Fotografía de la toma de muestra de sangre de la región ano caudal.



FIGURA 3. Fotografía de la muestra del suero sanguíneo



FIGURA 4. Fotografía procesando la muestra

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZAN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTENCIA

E.A.P MEDICINA VETERINARIA

ENCUESTA APLICADA AL PROPIETARIO PARA MEDIR FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LA PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Instrucciones:

Estimado Señor/Sra. Propietario del predio sírvase a responder las preguntas que le serán efectuadas por el encuestador según su criterio y en concordancia con la situación real que se suscita en el rol de propietario que le toca cumplir.

Le comunicamos que la precisión de su respuesta es fundamental por lo tanto le agradecemos se sirva a responder con la veracidad del caso, asimismo le comunicamos que la información será conservada de manera confidencial.

Gracias.

DEL PROPIETARIO

Nombres y Apellidos:

.....

¿Cuántas personas viven en su casa?

.....

¿Cuál es el promedio de ingreso mensual de su familia?

.....

¿Sufre de alguna enfermedad?

.....

DE LA GRANJA

Nombre de la Granja:

Lugar:

Cuenta con asesoramiento técnico:

Si ()..... No ()

¿Cuánto tiempo se dedica a la crianza del ganado vacuno?

En años:

¿Qué raza o razas de ganado cría Ud.?

.....

¿Cuánto es la población de ganado bovino que cría Ud.?

Terneras.....

Vaquillonas.....

Terneros.....

Vacas.....

Vaquillas.....

Toros.....

Total.....

¿Cuál es el sistema de crianza que emplea Ud.?

Extensivo ()

Intensivo ()

Semi extensivo ()

¿Cuál es la carga animal de su hato?

.....
¿Qué tipo de animales o mascotas cría Ud.?

Alpacas ()

Ovinos ()

Cerdos ()

Perros ()

Gatos ()

Aves ()

Cabras ()

Otros.....