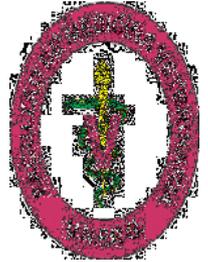




UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



Prevalencia serologica de brucelosis bovina, mediante la prueba rosa de bengala, en el Distrito de Puente Piedra Provincia de Lima – 2019.

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por:

Bach. M.V. Salazar Abramonte, Juancarlos

Asesor:

Msc. Baique Camacho, Dionicio

LAMBAYEQUE-PERÚ

2019

**“PREVALENCIA SEROLOGICA DE BRUCELOSIS BOVINA, MEDIANTE LA
PRUEBA ROSA DE BENGALA, EN EL DISTRITO DE PUENTE PIEDRA
PROVINCIA DE LIMA – 2019.”**

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO

PRESENTADA POR:

Bach. M.V. JUANCARLOS SALAZAR ABRAMONTE



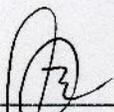
MSc. M.V. BENJAMIN GARCIA VILELA
PRESIDENTE



M.V. ELMER ERNESTO PLAZA CASTILLO
SECRETARIO



MSc. M.V. MARGARITA HORMECINDA TORRES MALCA
VOCAL



MSc. M.V. DIONICIO BAIQUE CAMACHO
PATROCINADOR



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD MEDICINA VETERINARIA
UNIDAD DE INVESTIGACION



Libro de Acta de Sustentación de Tesis

Folio: N° 00160

Siendo las 10:10 a.m. horas del día Viernes 13 de Diciembre del año 2019, se reunieron en el Auditorio "Luis Enrique Díaz Huamán" de la Facultad de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, los miembros del jurado conformado por los siguientes docentes:

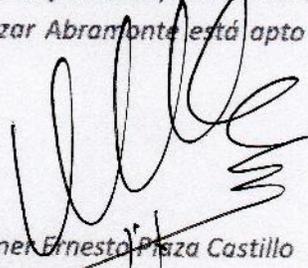
MSc. Benjamín García Vilela	Presidente
M.V. Elmer Ernesto Plaza Castillo	Secretario
MSc. Margarita Hormecinda Torres Malca	Vocal
MSc. Dionicio Baique Camacho	Asesor

Nombrados mediante Decreto N° 121-2019-FMV del 23 de Julio de 2019, para recepcionar la tesis: "PREVALENCIA SEROLÓGICA DE BRUCELOSIS BOVINA, MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA, EN EL DISTRITO DE PUENTE PIEDRA PROVINCIA DE LIMA-2019", a cargo del Bachiller Juancarlos Salazar Abramonte, aprobado por Decreto N° 156-2019-UI-FMV del 24 de Setiembre de 2019.

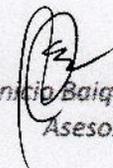
Finalizada la sustentación, los miembros del jurado procedieron a formular las preguntas correspondientes y luego de las aclaraciones respectivas, han deliberado y acordado aprobar el presente trabajo de tesis con el calificativo de MUY BUENO.

Finalmente, se procedió a levantar la presente acta en señal de conformidad, siendo las 11:40 horas del mismo día. Por lo tanto, el Bachiller Juancarlos Salazar Abramonte está apto para obtener el título de Médico Veterinario.


MSc. Benjamín García Vilela
Presidente


M.V. Elmer Ernesto Plaza Castillo
Secretario


MSc. Margarita Hormecinda Torres Malca
Vocal


MSc. Dionicio Baique Camacho
Asesor



DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, JUANCARLOS SALAZAR ABRAMONTE
investigador principal, y MSc. DIONICIO BAIQUE CAMACHO asesor
del trabajo de investigación "PREVALENCIA SEROLOGICA DE BRUCELOSIS
BOVINA, MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN EL
DISTRITO DE PUENTE PIEDRA PROVINCIA DE LIMA-2019" , declaramos bajo
juramento que este trabajo no ha sido plagiado, ni contiene datos falsos. En caso se
demostrara lo contrario, asumimos responsablemente la anulación de este informe y por ende
el proceso administrativo a que hubiera lugar, que puede conducir a la anulación del Título o
Grado emitido como consecuencia de este informe.

Lambayeque, 09 de ENERO de 2020

Nombre Investigador (es) JUANCARLOS SALAZAR ABRAMONTE

Nombre del Asesor MSc. DIONICIO BAIQUE CAMACHO

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a la memoria de mis queridos padres **Carlos Fernando Salazar** y **Flora Abramonte** por su apoyo incondicional, esfuerzo y sacrificio que han hecho posible cumplir mis objetivos.

A mi hermana **Mary Celina** que gracias a su amor y comprensión me impulsa a cumplir mis metas.

A mis tíos **Andrés Abramonte** y **Jesús Salazar** por sus sabios consejos así mismo mis hermanos **Javier** y **Robert** que con su cariño me ayudan a seguir cada día.

JUANCARLOS

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a **Dios** por darme fuerzas para continuar luchando en situaciones difíciles y nunca abandonarme dándome sabiduría para enfrentar las dificultades que se presentan.

A la **Dra. Magaly Díaz García** por brindarme su amistad y profesionalismo en la elaboración de la tesis.

A los **Doctores de la Facultad de Medicina Veterinaria** por su buena actitud sobre todo por su paciencia al **Personal Administrativo** Gracias a todos por sus conocimientos compartidos buenos consejos y motivación constante.

Al **Dr. Dionicio Baique Camacho** por sus conocimientos y apoyo para la ejecución de mi tesis.

Al **Dr. Rodolfo A. Miranda Obando** por su amistad y sabiduría alentándome en culminar la carrera.

Los Amigos auténticos están ahí sin pedirlo.

Dra. Yaritza Acuña C. por siempre tenderme una mano y tener una palabra de aliento.

Al **Ing. Ricardo Pichilingue D.** por su apoyo y amistad en la Agencia Agraria Puente Piedra.

“LA GRATITUD ES LA MEMORIA DEL CORAZÓN”.

(Lao Tse)

JUANCARLOS

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
CONTENIDO	iii
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE GRAFICOS.....	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 ANTECEDENTES.....	3
2.2 BASE TEORICA.....	8
III. MATERIALES Y METODOS.....	16
IV. RESULTADOS	22
V. DISCUSIONES.....	29
VI. CONCLUSIONES.....	31
VII. RECOMENDACIONES.....	32
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
IX. ANEXOS.....	38

LISTA DE CUADROS

ITEM	PAG.
Cuadro 1: Distribución porcentual de ganado bovino para muestreo según sector del Distrito de puente Piedra – Provincia de Lima 2019	16
Cuadro 2: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala en el Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	22
Cuadro 3: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala según sectores del Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	23
Cuadro 4: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala según raza en sectores en el Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	25
Cuadro 5: Prevalencia de brucelosis bovina según categoría de los animales por sectores del Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	27

LISTA DE GRAFICOS

ITEM	PAG.
Grafico 1: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala en el Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	22
Grafico 2: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala según sectores del Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	24
Grafico 3: Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala según raza en sectores en el Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	26
Grafico 4: Prevalencia de brucelosis bovina según categoría de los animales por sectores del Distrito de Puente Piedra – Provincia de Lima 2019.....	28

LISTA DE FIGURAS

ITEM	PAG.
Figura 1: Kit para la prueba de Rosa de Bengala.....	17
Figura 2: Obtención de muestra de sangre de la vena.....	19
Figura 3: Procedimiento de la prueba de Rosa de Bengala.....	20
Figura 4: Lectura de resultados de la Prueba de Bengala.....	20

RESUMEN

La brucelosis es una enfermedad que se encuentran bajo un programa nacional de control y erradicación en el Perú, la vigilancia epidemiológica se realiza con pruebas diagnósticas y una de ellas es la prueba de Rosa de Bengala una prueba de campo y la prueba confirmatoria es por ELISA competitiva o fijación de complemento, siendo necesarias para determinar prevalencia de brucelosis bovina, por tal se realizó un estudio teniendo por objetivo ***Prevalencia Serologica de Brucelosis Bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, en el distrito de Puente Piedra provincia de Lima – 2019***, contando con una población de 4075 cabezas de ganado de los cuales, se seleccionó por muestreo al azar estratificado 351 animales, de 16 hatos ganaderos, a los cuales se les extrajo una muestra de sangre, para luego ser analizada mediante la prueba serológica Rosa de Bengala. Como resultado de este estudio observamos que ningún animal fue seropositivo a Brucelosis bovina del total de vacunos muestreados; concluyendo que: No se encontró la presencia de Brucelosis Bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, en el distrito de Puente Piedra provincia de Lima, en el mes de septiembre del año 2019, siendo su prevalencia igual a 0 %.

ABSTRACT

Brucellosis is a disease that is under a national control and eradication program in Peru, epidemiological surveillance is performed with diagnostic tests and one of them is the Rose Bengal test a field test and the confirmatory test is by ELISA competitive or complement fixation, being necessary to determine the prevalence of bovine brucellosis, for this reason a study was carried out with the objective of Serological Prevalence of Bovine Brucellosis, through the Rosa de Bengal test, in the district of Puente Piedra province of Lima - 2019, counting with a population of 4075 head of cattle, of which, 351 animals, from 16 cattle herds, were selected by stratified random sampling, to which a blood sample was taken, and then analyzed by serological test Rose Bengal As a result of this study, we observed that no animal was seropositive to bovine brucellosis of the total number of sampled cattle; concluding that: The presence of Bovine Brucellosis was not found, through the Rosa de Bengal test, in the district of Puente Piedra province of Lima, in the month of September of the year 2019, being its prevalence equal to 0%

INTRODUCCION

La brucelosis es una enfermedad contagiosa zoonótica con importancia para la salud pública y la economía agropecuaria en la mayoría de los países en desarrollo. Su permanencia limita las posibilidades del sector pecuario y la comercialización internacional, influyendo negativamente en la rentabilidad de las explotaciones, en la calidad de los productos, en el consumo y en la salud pública (1).

Es producida por bacterias del género *Brucella*, y transmitida cuando un animal sano entra en contacto con animales portadores de la patología. En bovinos la especie que produce las mayores afectaciones es *B. abortus* (2). En algunos países, particularmente en el sur de Europa y en el oeste de Asia, donde el ganado se asocia con ovejas o cabras, la infección puede ser también debida a *B. melitensis*. En ocasiones, *B. suis* puede causar una infección de las mamas en el ganado bovino, aunque no se ha descrito que origine abortos (1).

La prevalencia de brucelosis bovina varía considerablemente entre países, en Latinoamérica las tasas que se registran van desde 0,5 a 10% (3) con cifras del 0,04% en Uruguay, 10,20% en el norte y el 0,06% en el sur de Brasil, 0,2% en Chile, 3,15% en Paraguay, 2,27% en Bolivia y Argentina 2,10% (4).

En el Perú desde 1998 se inició el programa de control y erradicación de brucelosis bovina realizándose en 1999 el primer monitoreo para saber la situación epidemiológica de la enfermedad en las principales cuencas lecheras del país (5). Según su último boletín epidemiológico emitido por SENASA en noviembre del 2014 (6) los casos de brucelosis bovina aumentaron en comparación al año anterior, por lo que sigue ejecutándose el programa de control y erradicación de brucelosis bovina a nivel nacional asumiendo que el nivel de prevalencia es bajo (7).

La vigilancia epidemiológica se realiza con pruebas diagnósticas y una de ellas es la prueba de Rosa de Bengala una prueba de campo y la prueba confirmatoria es por ELISA competitiva o fijación de complemento, estas son necesarias para determinar prevalencia de brucelosis bovina, las cuales permitirán realizar las medidas de prevención y control para mejorar la salud del hato y también la del ser humano (8).

La industria láctea y sus derivados es una de sus principales actividades económicas del distrito de Puente Piedra y esta enfermedad genera pérdidas económicas a los ganaderos de bovinos, por tal es indispensable conocer si está presente la enfermedad para poder realizar un correcto control de la enfermedad por tal se realizó el presente estudio teniendo como objetivo:

- Determinar la Prevalencia Serológica de Brucelosis Bovina, mediante la prueba de Rosa de Bengala, en el Distrito de Puente Piedra – Lima 2019.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS:

2.1.1 Prevalencia a nivel mundial.

A nivel mundial la Brucelosis es una de las enfermedades infecciosas que provoca cuantiosas pérdidas económicas al disminuir la producción de carne y leche, además puede transmitirse a los seres humanos (2).

En la India donde la brucelosis es endémica se han establecido prevalencias entre el 6,5% al 16,4% y pérdidas de 3,4 billones de dólares por la enfermedad en diferentes especies de animales domésticos; los bovinos y los búfalos representan el 95,8% del total de las pérdidas generadas (9).

En estudios realizado por Cowie et al., en Cantabria, España la brucelosis bovina alcanza el 21%, estableciendo factores como el compartir pastos en verano, la compra de ganado dentro de áreas y la presencia de perros en las fincas, relacionados significativamente con la positividad de los animales (10).

Japón no tiene brucelosis bovina, sin embargo, realiza pruebas serológicas a los bovinos como parte de su sistema nacional de vigilancia. Todas las vacas lecheras y toros reproductores son analizados al menos una vez cada 5 años. Este sistema de vigilancia es obligatorio para todos los bovinos así que es asumido que la tasa de ejecución de este tipo de vigilancia es del 100%. Adicionalmente, se realiza una vigilancia de leche en tanque con intervalos de 6, 12 y 24 meses dependiendo de la zona (11).

Un tipo parecido de vigilancia epidemiológica es realizado en Irlanda del Norte, pero con el análisis mensual de leche en tanque por medio de la prueba de ELISA. Además, los propietarios están obligados a reportar los abortos en bovinos a la Oficina Veterinaria local para las investigaciones (12).

En Colombia se estima que la seroprevalencia en la especie bovina está entre el 2,4 y el 5%, para lo cual se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de corte transversal en dos regiones del Caribe colombiano, en las áreas rurales de los

municipios Pijiño del Carmen (Magdalena) y María La Baja (Bolívar). Se recolectaron 246 muestras de suero de bovinos, implementando la prueba Rosa de Bengala (RB), confirmando los sueros positivos con la prueba de Elisa competitiva. En María La Baja se estableció una seroprevalencia del 11% con RB y del 6% C-Elisa y en Pijiño del Carmen del 1,36 con RB y del 0,6% con C-Elisa. Aunque la edad y el sexo no fueron independientes ($p > 0.05$) de la seropositividad; los animales positivos confirmados correspondieron a hembras entre 49 meses y mayores de 84 meses de edad (13).

En Argentina en las provincias de la Pampa y San Luis en 8965 vacas la seroprevalencia fue del 1,8% (157/8965) y en predios del 19,7% (89/451) utilizando las técnicas de BPAT como tamizaje y 2 mercaptetanol y SAT para confirmar los casos; estas cifras son inferiores a las del presente estudio donde además no se conocen los datos densidad de animales, índice vaca/ becerro que se ha establecido tienen relación con la presencia de la enfermedad (4).

En la Finca El Limón, provincia de El Oro - Ecuador, se realizó una investigación, en época lluviosa, con el objetivo de determinar la prevalencia de Brucelosis bovina, para lo cual se muestrearon las hembras en edad reproductiva de un total de 300 cabezas de ganado. Se consideró la raza, edad, sexo de los animales y se evaluaron las variables presencia o ausencia de abortos e infertilidad. Se utilizó un diseño completamente dirigido, de acuerdo a los resultados obtenidos de los animales evaluados, el 100 % de la muestra considerada resultó negativo a Brucelosis, a pesar de que tres de ellos habían presentado con anterioridad abortos, es decir los resultados muestran que la prevalencia de Brucelosis bovina es del 0 % en la finca El Limón, lo que indica que hasta el momento no constituye un problema sanitario o alimentario (2).

También se ha realizó investigación en el Camal Frigorífico Municipal Ambato, Ecuador, titulada “Prevalencia de Brucelosis en bovinos del Camal Municipal de Ambato”, se utilizó 200 muestras sanguíneas obtenidas al azar de los bovinos que ingresaron al camal, independientemente de la edad, sexo y procedencia de los mismos. Las muestras fueron analizadas resultando 3 hembras y 7 machos

positivos al reactivo Rosa de Bengala, a la prueba ELISA confirmatoria se obtuvieron 5 machos y 3 hembras IgM positivos esto nos indica que la enfermedad se encuentra cursando en fase crónica, 2 machos IgG positivos encontrándose en la fase aguda. Se identificó que el 4% de los animales positivos son procedentes de la ciudad de Ambato, Quero con el 5% y a Pelileo 8%; y en referente a la edad obtenemos un porcentaje del 6% de animales entre los 4 y 12 meses que se encuentran en etapa joven; el 4% entre los 13 – 36 meses en etapa de reproducción; y en un 4 % de 37 a 72 meses en su fase de descarte; de un total de 7 machos y 3 hembras (14).

Otro estudio de tipo epidemiológico transversal, se realizó para determinar los factores de riesgo de los animales y de los hatos asociados a brucelosis bovina. Se seleccionaron 2369 bovinos de la provincia Manabí, Ecuador; asimismo, se realizó un estudio epidemiológico de tipo ecológico, donde se seleccionaron 20 hatos positivos (casos) y 20 hatos negativos (controles) a brucelosis. En ambos estudios se aplicó una encuesta epidemiológica para determinar los principales factores de riesgo asociados a la presentación de la enfermedad. El estudio individual determinó un mayor riesgo de padecer la enfermedad para los animales mayores de 5 años ($p < 0.0001$) y para hembras ($p < 0.05$). En los hatos, las ganaderías dedicadas a la producción de leche ($p < 0.05$), las que no investigan en ganado antes de ingresar a sus predios ($p < 0.05$) y las que no vacunan ($p < 0.001$) presentan un mayor riesgo de afectarse por la enfermedad. Se comprobó, además, una mayor probabilidad de presentación de abortos en ganaderías afectadas por brucelosis que en las no afectadas ($p < 0.02$). Se concluye que hay un mayor riesgo a presentar la enfermedad en animales mayores de 5 años y en fincas dedicadas a la producción de leche, en las que no investigan el estado sanitario de los bovinos que ingresan a la finca y en las que no vacunan contra la enfermedad (15).

Así mismo se determinó la prevalencia de brucelosis bovina y los factores de riesgo zoonóticos. El trabajo se realizó en la Provincia Santo Domingo de los Tsachilas. Se muestreo 19 UPAs correspondiendo al total de la población, a las cuales se realizó la prueba de anillo en leche (PAL) a cada una, dando como resultado una UPA positiva (5,26%). Para la confirmación de los resultados

obtenidos en PAL, 534 sueros bovinos fueron analizados con las pruebas Rosa de Bengala (RB) y Aglutinación lenta de Wright (SAT) en presencia de EDTA, donde solo un animal (0,19%) presentó anticuerpos (Ac) contra *Brucella* spp a las 2 pruebas. Para determinar los factores de riesgo se realizaron encuestas a los propietarios de cada UPA, comprobando que las principales formas de contagio en caso de presentarse la enfermedad son: el contacto con los animales y el consumo de subproductos contaminados. El análisis económico demuestra que la vacunación es la principal y la forma más económica de prevenir brucelosis. Además, la prevalencia no puede ser considerada como real ya que no se conoce el estatus de vacunación de la zona de estudio (16).

2.1.2 Prevalencia a nivel nacional.

Se realizó un estudio en la provincia de Leoncio Prado; con el objetivo de determinar la seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos lecheros en etapa de lactación, mediante la prueba de aglutinación en placa. En el estudio se utilizaron 275 muestras de suero sanguíneo de una población en riesgo de 1,364 vacas, los animales estudiados fueron de las razas Holstein, Brown Swiss y Cruzadas, de 1° al 8° parto. El resultado obtenido en la seroprevalencia de *Brucella abortus* fue 0.29% ($P < 0.05$). Se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia es $< 1\%$ (17).

También se determinó la seroprevalencia de brucelosis en bovinos de crianza extensiva en el distrito de Puerto Inca - Huánuco, 2007. Se colectaron muestras de sangre de 3221 animales para el diagnóstico de *Brucella* sp. Mediante la prueba de aglutinación Rosa de Bengala. No se encontraron reactores positivos, y con el programa @Risk de simulaciones estocástica de distribución beta se calculó una prevalencia media de 0.031% con rangos de 0.0008 a 0.1144 (18).

En el distrito de Codo del Pozuzo, Huánuco, se llevó a cabo un estudio de prevalencia de *Brucella* sp. en 5439 bovinos entre abril a junio de 2007. Dos bovinos resultaron positivos a la prueba de Rosa de Bengala, pero negativos a la prueba confirmativa de Fijación del Complemento. El modelo de simulaciones

estocásticas de distribución beta mostró una prevalencia de 0.02% con intervalo de confianza mínimo de 0 y máximo de 0.06% (19).

En el distrito de San José de Lourdes, provincia de San Ignacio, Cajamarca; con el objetivo de determinar la prevalencia de brucelosis bovina, se seleccionó una muestra de 102 animales, de 17 hatos ganaderos, escogiendo 6 animales al azar por cada hato, a los cuales se le extrajo una muestra de sangre, para luego ser analizada mediante la prueba serológica Rosa de Bengala. Como resultado del estudio observamos que ningún animal fue seropositivo a Brucelosis bovina del total de vacunos muestreado (20).

Otra investigación se realizó en vacunos de las cuencas Mashcón y Chonta de septiembre a noviembre del 2016, con el objetivo de determinar la prevalencia de brucelosis bovina. El diagnóstico se determinó mediante la prueba rosa de bengala y fijación de complemento. Se trabajó con 766 animales, las muestras sanguíneas fueron recolectadas de la vena coxígea (aproximadamente 5 - 8 ml en tubos sin anticoagulante) y luego analizados en laboratorio de SENASA Baños del Inca. La prevalencia se calculó mediante la siguiente fórmula: $\text{Prevalencia} = [\text{Total de casos existentes en un periodo de tiempo} / \text{Población total en el periodo de tiempo}] * 100$ y luego trabajados bajo la prueba de Z de proporciones. Se determinó una prevalencia de 0.13% y mediante la prueba de Z de proporciones nos respaldamos para afirmar que la prevalencia es menor a 01% (21).

La brucelosis es una enfermedad que se encuentran bajo un programa nacional de control y erradicación en el Perú. El objetivo fue evaluar la presencia de brucelosis bovina en establecimientos lecheros de crianza familiar, en el distrito de Moche - Trujillo. Se analizaron 114 bovinos en edad reproductiva pertenecientes a 12 establos que no pertenecen al Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, se les extrajo una muestra de sangre de la vena coccígea, las mismas que fueron transportadas al laboratorio de Medicina Veterinaria y Zootecnia UPAO para su análisis mediante la prueba de Rosa de Bengala. El estudio tuvo una prevalencia del 0%, donde que no se encontraron animales reactores positivos (22).

2.1.3 Prevalencia a nivel local.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de *Brucella* sp. en el ganado bovino de la provincia de Canta-Lima, mediante la detección de anticuerpos en suero a través de la prueba inicial de Rosa de Bengala y la de Fijación de Complemento como prueba confirmatoria. Se procesaron 486 muestras de suero encontrándose un animal positivo a *Brucella* sp. en el distrito de Santa Rosa de Quives, lo que significó una prevalencia de 0.21% con intervalo de confianza mínimo de 0.09 y máximo de 0.60%. Los resultados indican una baja prevalencia, lo que permitiría implementar un programa de erradicación de brucelosis bovina en la provincia de Canta (23).

Otro estudio cuyo objetivo fue describir las características epidemiológicas y clínicas de la brucelosis humana en pacientes con diagnóstico positivo en el Hospital Nacional «Daniel A. Carrión» (Callao, Perú) 2007-2014. Se revisaron 68 historias clínicas con diagnóstico positivo a brucelosis por *B. melitensis*. En 2007 se registró el mayor número de casos (41.1%), y en general, la mayoría se presentó en mujeres (58.8%), procedentes del Callao (75.0%), predominando estudiantes (34.5%) y amas de casa (29.3%). Los principales signos clínicos encontrados son fiebre (83.8%), cefalea (57.4%) y dolores articulares (55.9%). La prueba de laboratorio más solicitada fue Rosa de Bengala (24).

2.2 BASE TEORICA:

2.2.1 Definición

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, de origen bacteriano, Gram positiva, no presentan cápsula ni esporas y carecen de flagelos; son aeróbicas e inmóviles que afecta a los bovinos alterando su reproducción, se caracteriza fundamentalmente por producir abortos, partos prematuros, crías débiles, infertilidad temporal y merma en la producción de leche (22).

Para Moral, es causada por microorganismos del género *Brucella* spp, que son un grupo de bacterias intracelulares, inmóviles y de crecimiento lento (25).

García, define a la Brucelosis como una zoonosis endémica causada por bacterias Gram negativas pertenecientes al género *Brucella*, y establece como una de sus

particularidades, que su comportamiento es como parásitos intracelulares facultativos (26).

Así mismo el INATEC, define la Brucelosis como una enfermedad infecto-contagiosa que puede afectar a diversas especies de animales, entre los que se encuentran las ovejas, cabras, bovinos, cerdos, caballos, perros, algunos mamíferos marinos y animales silvestres; puede ser transmitida entre ellos y transmitida a los seres humanos (27).

De la misma manera Ortiz , define a la Brucelosis como una enfermedad de alta importancia en la salud pública, y la señala como la patología zoonótica más persistente en todo el mundo; pertenece a la lista B de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizootias, entre sus características se encuentra que posee una alta prevalencia en los llamados países en vías de desarrollo, debido a las deficientes condiciones sanitarias que presentan, sistema tradicional de explotación animal, además, de no presentar un sistema de seguimiento epidemiológico adecuado. (14).

2.2.2 Etiología

La brucelosis es una zoonosis, que afecta a bovinos, ovinos, cabras, cerdos y al hombre. Nueve especies de *Brucella* se han reportado hasta el momento, cuatro especies son zoonóticas: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. melitensis* y *B. suis*, que por lo general están relacionadas con ganado, perros, cabras, ovejas y cerdos respectivamente. Otras especies tales como *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. pinipedialis*, y *B. inopinata* son huéspedes específicos (28).

Brucella abortus es considerada el agente causal de la brucelosis bovina siendo más frecuente el biovar 1. Se ha documentado que otras especies como *B. suis* (biovar 1 y 3) y *B. melitensis* son capaces de infectar bovinos, aunque la infección no está asociada con la aparición de signos clínicos (29). Así también *Brucella abortus*, biovar 1-6 y 9; *B. melitensis*, biovar 1-3; *B. suis*, biovar 1,3-5 y *B. canis* son patógenas en humanos (25).

2.2.3 Morfología

El género *Brucella* se observa al microscopio como cocobacilos de 0.5 a 0.7 μm de diámetro y de 0.5 a 1.5 μm de largo, estos cocobacilos no esporulados, a capsulados, carentes de flagelos, poseen una envoltura celular característica, la membrana externa, la membrana interna y un espacio periplásmico intermedio, en el periplasma hay proteínas y un gel glucopéptido denominado peptidoglicano (PG) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria, el citoplasma es rico en ADN, ARN, y proteínas citosólicas, algunas de ellas importantes desde el punto de vista del diagnóstico (15).

2.2.4 Periodo de Incubación

Se ha demostrado que el período de incubación es extremadamente variable e inversamente proporcional al desarrollo del feto. Cuanto más adelantada está la preñez, más corto es el período de incubación de *Brucella* (30).

2.2.5 Manifestaciones Clínicas

El principal síntoma de la patología es el aborto en las reproductoras en el último tercio de la gestación, infertilidad, retención placentaria, mortalidad neonatal y perinatal y debilitamiento de las crías, en machos causa orquitis unilateral y también infertilidad (27).

La especial afinidad que estas bacterias tienen por el endometrio grávido y por la placenta fetal de bovinos, hace que estas bacterias también proliferen extensamente en trofoblastos de la placenta que rodean al feto, lo que condiciona que la principal manifestación clínica de la infección aguda en los animales sea el aborto durante el último tercio de la gestación o el nacimiento de animales prematuros poco viables (31).

En los machos, los órganos afectados incluyen las vesículas seminales, los testículos y epidídimo. Cuando la enfermedad se presenta, uno o ambos testículos pueden aumentar de tamaño, con disminución de la libido, lo que puede ocasionar una infertilidad temporal o permanente. A veces puede haber una atrofia testicular debido a adherencias y fibrosis (30) o abscesos en testículos y epidídimo (31).

Los abortos son consecuencia de la inflamación de la placenta, la cual presenta necrosis que afecta a los cotiledones que aparecen blandos, de color amarillento y cubiertos con una capa delgada de exudado parduzco. La invasión del útero gestante produce una grave endometritis ulcerosa de los espacios intercotiledónareos. La bacteria invade el alantocorion, los líquidos fetales y los cotiledones placentarios, provocando la destrucción de las vellosidades. En los machos, la orquitis necrotizante producida por la bacteria ocasiona lesiones fibróticas localizadas. En fetos infectados experimentalmente se ha observado hiperplasia linfoide en múltiples ganglios linfáticos, depleción linfoide en la corteza del timo, hiperplasia cortical de las suprarrenales y focos inflamatorios diseminados formados principalmente por grandes leucocitos mononucleares (31).

Otros signos de la infección en vacas incluyen la reducción de la producción de leche que se estima hasta en un 25%, disminución en la eficiencia reproductiva, reabsorciones embrionarias, retención de placenta y metritis (29).

Es importante destacar que la infección en animales depende de la edad, estado reproductivo e inmunológico, resistencia natural, ruta de infección y virulencia de la cepa infectiva (29).

2.2.6 Control y erradicación

La utilización de vacunas juega un papel central en los programas de control y erradicación de la brucelosis bovina y han sido utilizados con éxito en todo el mundo durante décadas. La cepa 19 y RB51 son las vacunas de cepa B. abortus aprobados más comúnmente utilizado para proteger al ganado contra la infección y el aborto. Sin embargo, debido a que hay algunos inconvenientes mostrados por estas vacunas muchos esfuerzos se están realizando para el desarrollo de nuevas vacunas, más seguras y más eficaces, que también podría usarse en otras especies susceptibles (32).

El Perú tiene un programa sanitario de control y erradicación de brucelosis bovina, desde hace 18 años, a cargo del servicio nacional de sanidad agraria (SENASA).

El programa se basa en un diagnóstico preliminar y global a través de la prueba de Rosa de Bengala, seguido por una prueba confirmativa de fijación del complemento para muestras positivas a la prueba tamiz (33).

2.2.7 Factores de riesgo

La prevalencia de Brucelosis está influenciada por las condiciones socioeconómicas de cada lugar. En países en vías de desarrollo, en los cuales se utiliza un sistema tradicional de manejo de los 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 (16).

Paredes, indica que 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, así como el personal de laboratorio.

La infección se produce a cualquier edad y persiste solo en animales sexualmente maduros, una pequeña porción de infecciones intrauterinas persiste en terneras inmunes pasivamente, estos animales no deben utilizarse como reproductores. Cuando más avanzada sea la gestación en el momento de la exposición, mayor es el riesgo de infección (34).

2.2.8 Diagnóstico

INATEC, define al diagnóstico como la técnica donde se efectúa la toma de muestra de sangre, preservación y posterior envío al laboratorio y define la Prueba de Rosa de Bengala como una de las principales

La Prueba rosa de bengala: Es la más difundida, cualitativa, rápida, barata, de ejecución simple en placa y es utilizada como prueba tamiz porque permite el procesamiento de un gran número de muestras por día. Posee una óptima sensibilidad, una buena especificidad y detecta infecciones precoces (35).

Se pone en contacto una parte del suero (30 μ L) con 30 μ L de antígeno y se observa la presencia de aglutinaciones. Esta prueba utiliza como antígeno suspensiones de *Brucella abortus* al 8,5%, ajustadas a pH 3.6, con el agregado del colorante Rosa de Bengala en tampón lactato muy ácido. Detecta anticuerpos IgM e IgG1. Se informa como positiva o negativa y requiere la confirmación mediante fijación de complemento o ELISA (35).

Respecto a la leche cruda y productos lácteos no pasteurizados, se han utilizado pruebas de aglutinación en placa y aglutinación en tubo con y sin 2-mercaptoetanol para identificar animales positivos en estudios de hatos (36).

A) Métodos directos

Se basan en evidenciar la presencia de la bacteria o de sus componentes en los tejidos del individuo. Las preparaciones teñidas por ZNM a partir de muestras como cotiledones, abomaso, contenido estomacal fetal y supuraciones uterinas frecuentemente revelan características de cocobacilos ZNM positivos; igualmente se pueden utilizar muestras fetales de bazo y pulmón. También se sugiere intentar el aislamiento desde nódulos linfáticos, en especial los retromamarios; glándula mamaria, semen, epidídimo, líquido articular, calostro y leche (30).

El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento de la bacteria, frecuentemente a partir de hemocultivos. La técnica más utilizada para realizarlos es la de Ruiz Castañeda, que consiste en la inoculación de sangre en frascos herméticamente cerrados que contienen, simultáneamente, un medio líquido (caldo triptosa) y un medio sólido (agar triptosa). Los cultivos deben mantenerse en incubación un tiempo no menor a 30 días. Hay que destacar que el cultivo bacteriológico de *Brucella* es una técnica fácil, rápida y económica, pero tiene una baja sensibilidad en muestras de leche y productos lácteos (37) y al utilizar muestras de leche y semen las pruebas deben repetirse si el resultado es negativo ya que la descarga de *Brucella* puede ser intermitente (30).

B) Métodos indirectos o serológicos

Se basan en evidenciar la presencia de anticuerpos producidos frente a los antígenos de los microorganismos infectantes. Dentro de las pruebas serológicas utilizadas en el diagnóstico de brucelosis en bovinos se encuentran:

✓ **Prueba de Rosa de bengala**

Es la prueba más difundida, cualitativa, rápida, barata, de ejecución simple en placa y es utilizada como prueba tamiz porque permite el procesamiento de un gran número de muestras por día (30). Su sensibilidad es de 75% y especificidad de 100 %. Para su realización se enfrenta una parte del suero (30 µl) con 30 µl de antígeno y se observa la presencia de aglutinaciones. Esta prueba utiliza como antígeno suspensiones de *B. abortus* al 8,5%, ajustadas a pH 3.6, con el agregado del colorante Rosa de Bengala en tampón lactato muy ácido. Detecta anticuerpos IgM e IgG1. Se informa como positiva o negativa y requiere la 15 confirmación mediante fijación de complemento o ELISA. Las reacciones falsas positivas se deben a la actividad residual de anticuerpos de la vacunación, a la presencia de anticuerpos del calostro en terneros, a reacciones cruzadas con ciertas bacterias y a errores de laboratorio (37).

✓ **Fijación de Complemento**

Tiene 97.5% de sensibilidad y 99.9% específica (38), de referencia internacional y es confirmatoria para animales individuales, pero es lenta, compleja, difícil de estandarizar (30). Presenta mejor correlación con los aislamientos en animales natural o experimentalmente infectados, lo que la hace la prueba de referencia para la validación de otras pruebas serológicas (39). En la primera etapa de la reacción se incuban diluciones del suero inactivado con el antígeno y el complemento. En la segunda etapa se agrega el sistema hemolítico y se compara la hemólisis con los estándares correspondientes a 0, 25, 50, 75 y 100% de lisis. Puede utilizarse una dilución 1:200 del antígeno empleado en la reacción de Huddleson, o un antígeno soluble denominado HS que se prepara a partir de una suspensión bacteriana tratada con solución salina caliente. Esta prueba detecta anticuerpos IgG1. La prueba de fijación de complemento casi nunca ofrece

resultados inesperados y es muy útil para diferenciar títulos debidos a la vacunación de aquellos debidos por la infección.

2.2.9 Tratamiento

Según INATEC, la patología no puede ser sometida a un tratamiento, ya que no se controla por lo que el animal positivo debe ser sacrificado.

Los fallos en el tratamiento no se deben al desarrollo de una resistencia a antibióticos. Si no más bien a la incapacidad del medicamento de penetrar la barrera de la membrana celular (35), sin embargo, se puede intentar combatir con una dosis diaria de 600 a 900 mg de rifampicina, combinada con 200 mg diarios de doxiciclina, durante 6 semanas por lo menos (30).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 LUGAR DEL ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en Lima, distrito de Puente de Piedra, en los sectores de Copacabana, San Lorenzo, El Roble, Mariátegui, Santa Patricia, Maranga, El Dorado, Zapallal, San Juan, La Coronela, Naranjito, Arenitas, Los Gramadales, Las Fresas, Valle Hermoso, Tambolago.

El periodo experimental fue en el mes de setiembre 2019, realizándose la investigación con apoyo de la Agencia Agraria Puente Piedra, SENASA.

3.2 POBLACION Y MUESTRA

La población estuvo constituida por 4075 vacunos mayores de seis meses de edad (40), al aplicar la formula estadística para población finita (41) obteniendo una muestra de 351 vacunos mayores de seis meses, también se utilizó la afijación proporcional (estratificación proporcional a cada sector – cuadro 1)

Cuadro 1: Distribución porcentual de ganado bovino para muestreo según sector del distrito Puente de Piedra – provincia de Lima 2019.

SECTOR	Nº VACUNOS	TAMAÑO MUESTRA
Copacabana	69	6
San Lorenzo	205	18
Roble	43	4
Mariategui	72	6
Santa Patricia	26	2
Maranga	137	12
El Dorado	129	11
Zapallal	830	71
San Juan	141	12
La Coronela	80	7
Naranjito	203	18
Arenitas	84	7
Gramadales	1961	169
Las Fresas	50	4
Valle Hermoso	14	1
Tambolago	31	3
TOTAL	4075	351

Fuente: Agencia Agraria Puente Piedra, SENASA Lima 2017

3.3 MATERIALES Y EQUIPOS

3.3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- Suero Bovino
- Reactivo de Rosa de Bengala



Figura 1: Kit para la prueba Rosa de Bengala.

3.3.2 MATERIAL PARA PRUEBA ROSA DE BENGALA

- Micropipetas
- Placas de vidrio cuadrículadas
- Aglutinoscopio con fondo oscuro y luz blanca
- Centrifuga
- Palillos de madera

3.3.3 EQUIPOS Y MATERIALES EN GENERAL:

- Guardapolvo
- Guantes
- Alcohol
- Tubos y capsulas vacutainer 10 ml
- Agujas vacutainer
- Tubos estériles
- Termo refrigerante
- Gradillas
- Etiquetas
- Equipo de sujeción de animales (sogas)

3.4 TECNICAS, METODOLOGIA:

3.4.1 TECNICAS:

Se empleó para el diagnóstico la Prueba Rosa de Bengala, esta prueba consiste en un procedimiento de observación rápida de macro aglutinación hecha en una sola dilución evidenciando principalmente anticuerpos de tipo IgG

La prueba se fundamenta en la inhibición de algunas aglutinas inespecíficas a pH bajo.

✓ PRUEBA ROSA DE BENGALA

Es la prueba tamiz oficial en la ejecución de las actividades del Programa de control y erradicación de Brucelosis Bovina (DS-033-2000-AG-SENASA). Pertenece a las pruebas conocidas como pruebas de antígeno tamponado o bufferado, incluso llamado “Card Test”. No es otra cosa que un procedimiento cualitativo de ejecución y observación rápida de macro aglutinación hecha en una sola dilución evidenciando principalmente anticuerpos de tipo IgG (40).

La prueba se fundamenta en la inhibición de algunas aglutinas inespecíficas a pH bajo. Se usa antígeno Corpuscular (B. abortus cepa 1119-3 o Weybridge 99) al 8% de concentración celular en solución tope estabilizado a $\text{pH } 3.65 \pm 0.05$. Cuando el antígeno estabilizado en diluyente bufferado se mezcla con el suero o plasma la variación del pH es muy limitada elevándose de 3.65 a 3.84 (± 0.05) (42).

3.4.2 METODOLOGIA.

a. Recolección de muestra de sangre.

La extracción de sangre fue de la vena coccígea, obteniendo 5 ml de sangre mediante el equipo vacutainer, para lo cual la zona fue desinfectada, se empleó agujas N° 20 y recepcionadas en tubos al vacío, debidamente identificados.



Figura 2: Obtención de muestra de sangre de la vena

Obtenida la muestra de sangre se dejó reposar en posición inclinada formando un ángulo de 45° aproximadamente, por un tiempo promedio de 30 minutos a temperatura ambiente, para la formación de un coagulo, luego se colocaron en un termo portátil para su transporte al laboratorio de la Agencia para su respectivo análisis.

b. Ejecución de la Prueba Rosa de Bengala

De forma previa al procesamiento de las muestras de sangre para su análisis con Rosa de Bengala, se extrajo el suero de los tubos vacutainer, para posteriormente colocarlos en la placa y continuar con lo siguiente:

b.1. Procedimiento

- ✓ Centrifugación de la muestra de sangre durante 3-5 minutos, con la finalidad de separar el suero de la sangre.
- ✓ Se depositó una gota de suero sanguíneo sobre el aglutinoscopio.
- ✓ Se colocaron 0,03 ml de antígeno con Rosa de Bengala, cerca de la gota de suero sanguíneo.
- ✓ Se procedió a mezclar de forma homogénea y completamente el antígeno con el suero.
- ✓ Se efectuó movimiento circular en forma de un ocho durante un periodo de cuatro minutos.

- ✓ Colocar el aglutinoscopio a luz directa para observar posibles aglutinaciones.

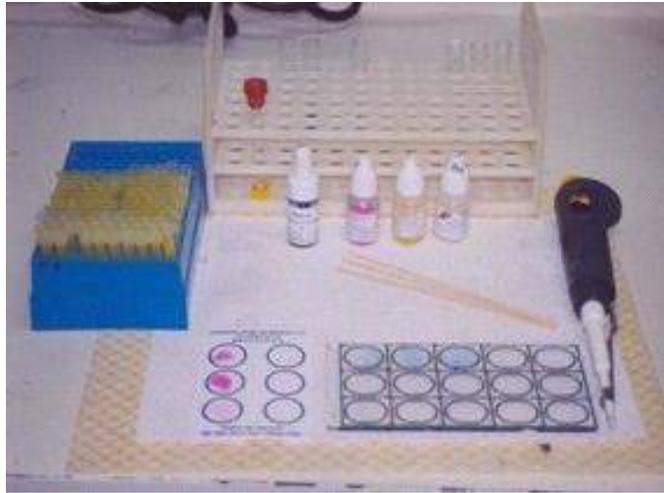


Figura 3: Procedimiento de la prueba Rosa de Bengala

b.2 Lectura

Positivos: Los resultados son positivos cuando hay presencia de grumos de aglutinación.

Negativos: Los resultados son negativos cuando no hay presencia de grumos de aglutinación.

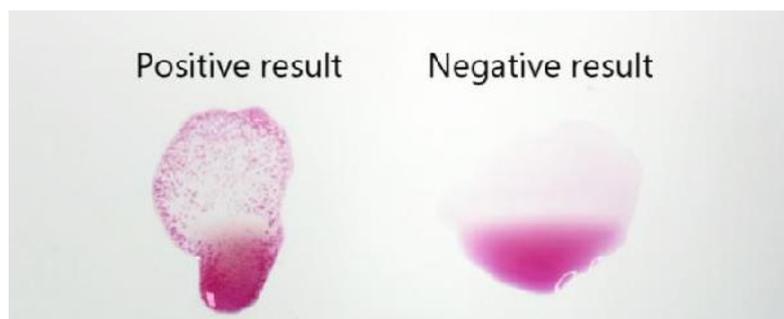


Figura 4: Lectura de resultados de la prueba Rosa de Bengala

A) Manejo del antígeno

Con la finalidad de no desechar muestras de sangre fueron colocadas en refrigeración, a temperatura entre 4 a 8 °C, aunque se evitó en todo momento la congelación de la muestra. Para el caso de los antígenos y el

suero se mantuvieron a temperatura ambiente y herméticamente tapados en función de evitar su contaminación.

B) Aglutinoscopio

Este comprende una caja con luz interior y una superficie horizontal traslúcida, que se utiliza para visualizar la aglutinación, para lo cual se colocó en su interior una tapa de vidrio.

3.5 ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar la prevalencia de brucelosis bovina en relación a la edad, raza, sexo, se utilizó la siguiente formula (43):

$$P = \frac{\text{Nº de casos con la enfermedad en un momento dado}}{\text{Total de población en ese momento}}$$

IV. RESULTADOS

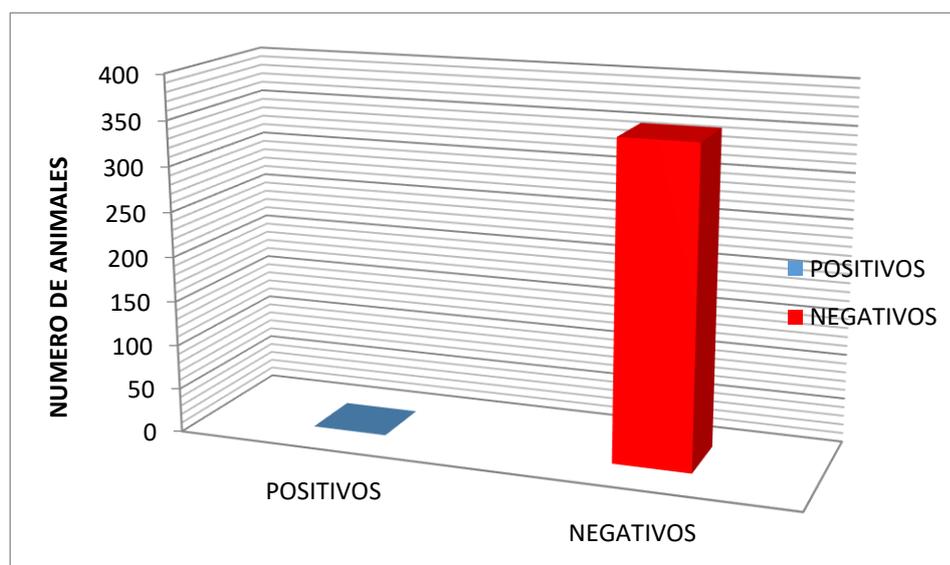
Realizada la prueba Rosa de Bengala a los 351 vacunos de los diferentes sectores del distrito de Puente Piedra se obtuvo los siguientes.

El cuadro 2 y grafico 1, muestra el porcentaje de prevalencia de Brucelosis Bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, correspondiente al distrito de Puente Piedra, observándose que ningún animal fue seropositivo a Brucelosis bovina de total de vacunos muestreados.

Cuadro 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba Rosa de Bengala en el distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019

RESULTADOS	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
N° ANIMALES	0	351	351

Grafico 1: Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba Rosa de Bengala en el distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019



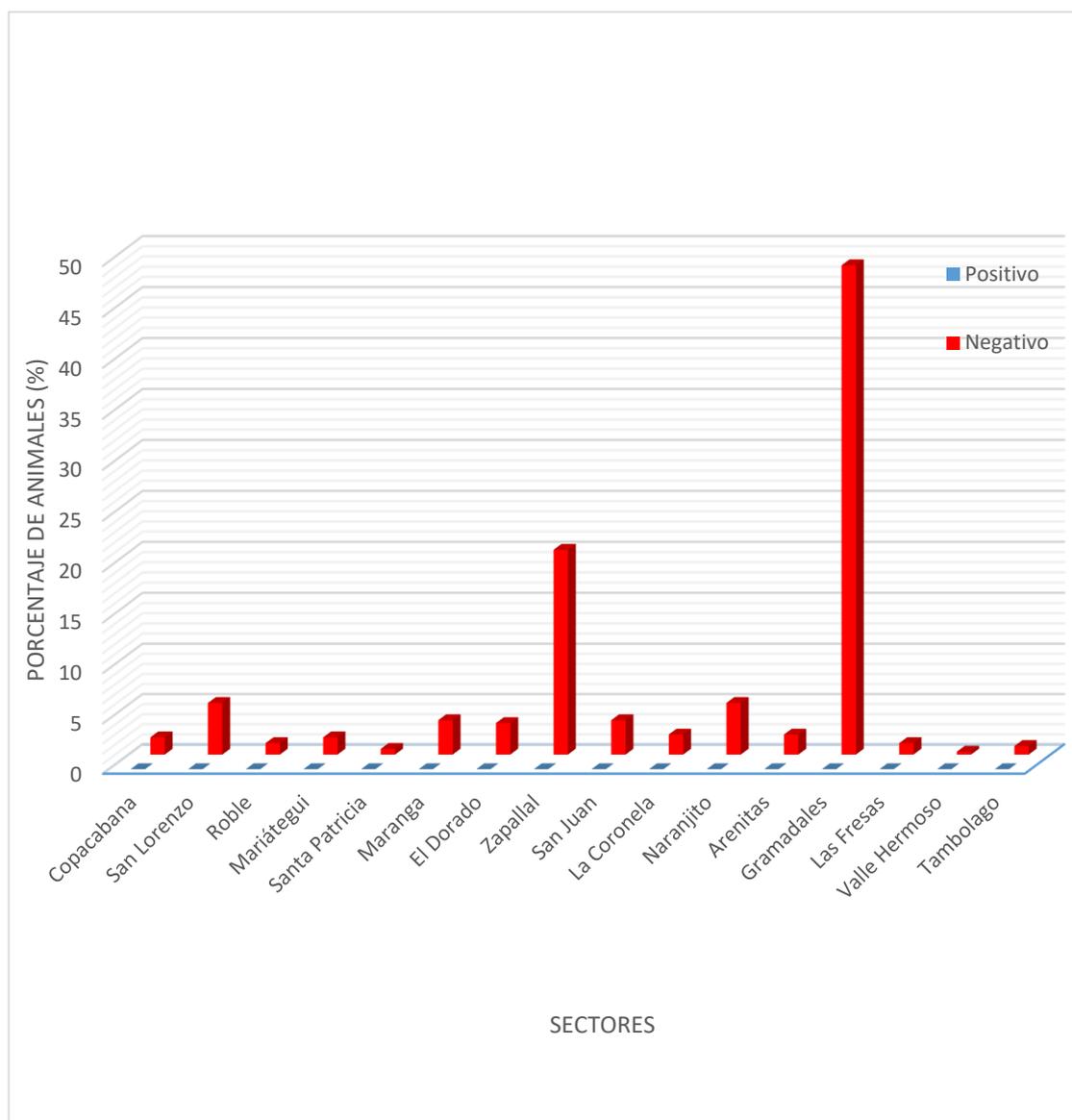
En el cuadro 3 y grafico 2, se presenta la prevalencia de Brucelosis bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, según sectores del distrito de Puente Piedra, observándose que en

ninguno de los sectores hubo animales seropositivos a Brucelosis bovina de total de vacunos muestreados

Cuadro 3: Prevalencia de Brucelosis bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala según sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019.

SECTOR	N° ANIMALES	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
		N°	%	N°	%	
Copacabana	6	0	0	6	1.71	6
San Lorenzo	18	0	0	18	5.13	18
Roble	4	0	0	4	1.14	4
Mariátegui	6	0	0	6	1.71	6
Santa Patricia	2	0	0	2	0.57	2
Maranga	12	0	0	12	3.42	12
El Dorado	11	0	0	11	3.13	11
Zapallal	71	0	0	71	20.23	71
San Juan	12	0	0	12	3.42	12
La Coronela	7	0	0	7	1.99	7
Naranjito	18	0	0	18	5.13	18
Arenitas	7	0	0	7	1.99	7
Gramadales	169	0	0	169	48.15	169
Las Fresas	4	0	0	4	1.14	4
Valle Hermoso	1	0	0	1	0.28	1
Tambolago	3	0	0	3	0.85	3
TOTAL	351	0	0	351	100.0	351

Grafico 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba Rosa de Bengala según sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019

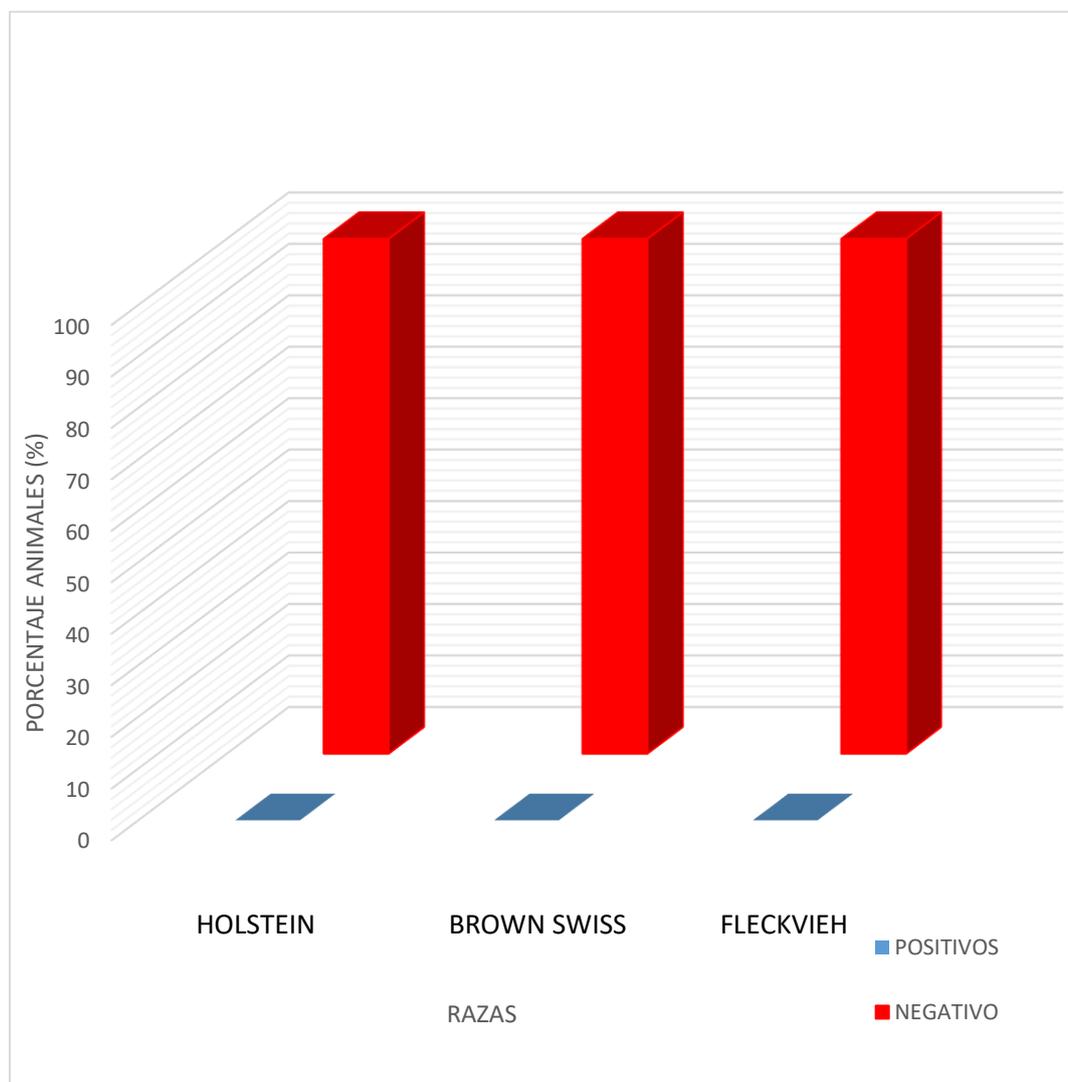


En el Cuadro 4 y grafico 3, presenta la prevalencia de Brucelosis bovina, según la raza de los animales según sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019, observándose que ambos sexos resultaron seronegativos a la prueba Rosa de Bengala.

Cuadro 4: Prevalencia de Brucelosis bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, según raza en sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019

RAZA SECTOR	N° ANIMALES	HOLSTEIN				BROWN SWISS				FLECKVIEH				TOTAL
		(+)		(-)		(+)		(-)		(+)		(-)		
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Copacabana	6	0	0	6	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6
San Lorenzo	18	0	0	14	4.8	0	0	4	8.5	0	0	0	0.0	18
Roble	4	0	0	3	1	0	0	1	2.1	0	0	0	0.0	4
Mariategui	6	0	0	6	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6
Santa Patricia	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13.3	2
Maranga	12	0	0	7	2.4	0	0	3	6.4	0	0	2	13.3	12
El Dorado	11	0	0	11	3.8	0	0	0	0	0	0	0	0.0	11
Zapallal	71	0	0	48	17	0	0	12	26	0	0	11	73.3	71
San Juan	12	0	0	8	2.8	0	0	4	8.5	0	0	0	0.0	12
La Coronela	7	0	0	5	1.7	0	0	2	4.3	0	0	0	0.0	7
Naranjito	18	0	0	13	4.5	0	0	5	11	0	0	0	0.0	18
Arenitas	7	0	0	7	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0.0	7
Gramadales	169	0	0	153	53	0	0	16	34	0	0	0	0.0	169
Las Fresas	4	0	0	4	1.4	0	0	0	0	0	0	0	0.0	4
Valle Hermoso	1	0	0	1	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0.0	1
Tambolago	3	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0.0	3
TOTAL	351	0	0	289	100	0	0	47	100	0	0	15	100	351

Grafico 3: Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba Rosa de Bengala, según raza en sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019

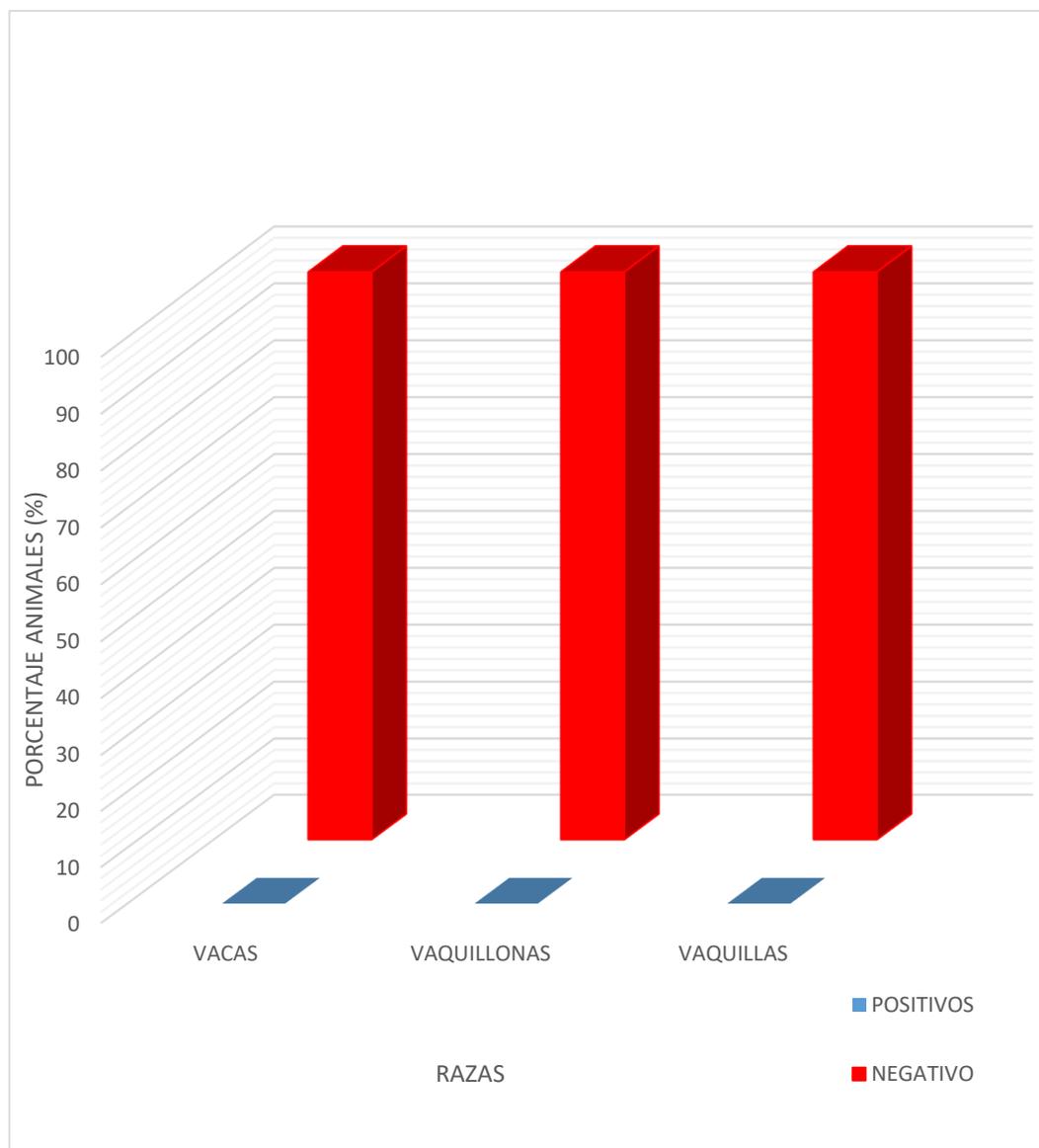


En el Cuadro 5 y grafico 4, se presenta la prevalencia de Brucelosis bovina, según la categoría de los animales según sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019, observándose que ambas razas resultaron seronegativas a la prueba Rosa de Bengala.

Cuadro 5: Prevalencia de Brucelosis bovina mediante la prueba Rosa de Bengala, según categoría de los animales por sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019

CATEGORIA SECTOR	N° ANIMALES	VACA				VAQUILLONA				VAQUILLA				TOTAL
		(+)		(-)		(+)		(-)		(+)		(-)		
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Copacabana	6	0	0	5	2.42	0	0	1	1.11	0	0	0	0	6
San Lorenzo	18	0	0	10	4.83	0	0	4	4.44	0	0	4	7.41	18
Roble	4	0	0	2	0.97	0	0	2	2.22	0	0	0	0	4
Mariátegui	6	0	0	4	1.93	0	0	2	2.22	0	0	0	0	6
Santa Patricia	2	0	0	2	0.97	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Maranga	12	0	0	9	4.35	0	0	1	1.11	0	0	2	3.7	12
El Dorado	11	0	0	7	3.38	0	0	4	4.44	0	0	0	0	11
Zapallal	71	0	0	41	19.8	0	0	19	21.1	0	0	11	20.4	71
San Juan	12	0	0	9	4.35	0	0	2	2.22	0	0	1	1.85	12
La Coronela	7	0	0	4	1.93	0	0	0	0	0	0	3	5.56	7
Naranjito	18	0	0	14	6.76	0	0	2	2.22	0	0	2	3.7	18
Arenitas	7	0	0	3	1.45	0	0	2	2.22	0	0	2	3.7	7
Gramadales	169	0	0	90	43.5	0	0	50	55.6	0	0	29	53.7	169
Las Fresas	4	0	0	4	1.93	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Valle Hermoso	1	0	0	1	0.48	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Tambolago	3	0	0	2	0.97	0	0	1	1.11	0	0	0	0	3
TOTAL	351	0	0	207	100	0	0	90	100	0	0	54	100	351

Grafico 4: Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante la prueba Rosa de Bengala, según categoría de los animales por sectores del distrito de Puente Piedra - provincia de Lima 2019



V. DISCUSION

La brucelosis es una enfermedad que se encuentran bajo un programa nacional de control y erradicación en el Perú, los resultados obtenidos (prevalencia de 0% de brucelosis bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala en el distrito de Puente Piedra, Lima) son alentadores sin embargo siendo la Brucelosis una enfermedad de alta importancia en la salud pública, y una de las patologías zoonóticas más persistente en todo el mundo; perteneciente a la lista B de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizootias (14), no se puede bajar la vigilancia por que en diversas zonas de Lima aún se encuentra algunos caso, en los cuales no se presentan altos porcentaje de prevalencia pero no dejan de representan un riesgo epidemiológico para la zona, así tenemos que en la provincia de Canta-Lima, distrito de Santa Rosa de Quives, mediante la detección de anticuerpos en suero a través de la prueba inicial de Rosa de Bengala y la de Fijación de Complemento como prueba confirmatoria se encontró un animal positivo a *Brucella* sp. (Prevalencia de 0.21% (23).

Una de las características de *Brucella*, es que posee una alta prevalencia en los llamados países en vías de desarrollo, debido a las deficientes condiciones sanitarias que presentan, sistema tradicional de explotación animal, además, de no presentar un sistema de seguimiento epidemiológico adecuado. (14), sin embargo el Perú estando dentro de los países en vía de desarrollo se está logrando mantener vigilado los brotes de Brucelosis bovina reforzando con los resultados obtenidos en el presente estudio así como también en otras zonas como en el distrito de San José de Lourdes, provincia de San Ignacio, donde de 102 animales, analizados mediante la prueba serológica Rosa de Bengala no se encontró ningún animal seropositivo a Brucelosis bovina (20), así mismo en el distrito de Moche - Trujillo en establos que no pertenecen al Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina a cargo de SENASA, se obtuvo también una prevalencia del 0% mediante la prueba de Rosa de Bengala (22).

Hay zonas del Perú en las que aún se encuentra animales seropositivos, así tenemos en la provincia de Leoncio Prado; en bovinos lecheros en etapa de lactación, mediante la prueba de aglutinación en placa, de las razas Holstein, Brown Swiss y Cruzadas, de 1° al 8° parto, se obtuvo 0.29% ($P < 0.05$). (17); así también en Huánuco en el distrito de Puerto Inca-2007, muestras analizadas mediante la prueba de aglutinación Rosa de Bengala, se obtuvo prevalencia media de 0.031% (18) y en el distrito de Codo del Pozuzo, prevalencia de 0.02%

(19) y en la sierra norte del país en las cuencas Mashcón y Chonta de septiembre a noviembre del 2016, mediante la prueba rosa de bengala y fijación de complemento, analizados en laboratorio de SENASA Baños del Inca, la prevalencia obtenida fue de 0.13% (21).

Por tal debe seguir ejecutándose el programa de control y erradicación de brucelosis bovina a nivel nacional, asumiendo que aun el nivel de prevalencia es bajo (7), en le Perú la vigilancia epidemiológica se realiza con pruebas diagnósticas y una de ellas es la prueba de Rosa de Bengala una prueba de campo y la prueba confirmatoria es por ELISA competitiva o fijación de complemento, siendo necesarias para determinar prevalencia de brucelosis bovina, las cuales permitirán realizar las medidas de prevención y control para mejorar la salud del hato y también la del ser humano (8), debiendo seguir el ejemplo de Japón que a pesar de no tener brucelosis bovina, siguen realizando pruebas serológicas a los bovinos como parte de su sistema nacional de vigilancia, siendo analizados al menos una vez cada 5 años, obligatorio para todos los bovinos, asumido que la tasa de ejecución de este tipo de vigilancia es del 100%, adicionalmente, realizan una vigilancia de leche en tanque con intervalos de 6, 12 y 24 meses dependiendo de la zona (11).

VI. CONCLUSIONES

Del estudio realizado y de sus resultados obtenidos se puede concluir que:

- No se encontró la presencia de Brucelosis Bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala, en el distrito de Puente Piedra provincia de Lima durante el mes de setiembre, 2019, siendo su prevalencia igual a 0 %.

VII. RECOMENDACIONES

- Concientizar y sensibilizar a la población sobre la importancia en la salud pública, y de la persistencia en todo el mundo de la enfermedad.
- Incentivar la educación sanitaria de Bioseguridad.
- Implementar sistemas de vigilancia epidemiológica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. SENASA. Informe del muestreo para determinación de prevalencias de Brucelosis Bovina en la zona de mayor producción bovina en la República Argentina Año 2014 https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/15_d-informe_final_muestreo_brucelosis_bovina_ano_2014_10-12-15.pdf
2. Guerrero K. Prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Las Lajas, de la provincia de El Oro, determinado por dos métodos de diagnóstico ELISA competitivo y Rosa de Bengala, tesis para optar el grado académico de médico veterinario y zootecnista, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil 2018 <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/10380>
3. Lucero N, Ayala S, Escobar G, Jacob N. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect.* 2008; 136(4):496-503.
4. Aznar M, Samartino L, Humblet M, Saegerman C. Bovine brucellosis in Argentina and bordering countries: update *Transbound Emerg Dis.* 2014; 61(2):121-33.
5. Senasa Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Programa de control y erradicación de tuberculosis y brucelosis bovina. 2006. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe>
6. SENASA Boletín epidemiológico SENASA (internet), Noviembre 2014. Disponible en line en : http://www.senasa.gob.pe/0/modulos/JER/JER_interna.asp
7. Senasa Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Programa de control y erradicación de tuberculosis y brucelosis bovina. 2006. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe>
8. Ministerio de Agricultura, D.S. N° 033-2000-AG “Reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina”. Diario Oficial “El Peruano”; 2000.
9. Singh B, Dhand N, Gill J. Economic losses occurring due to brucellosis in Indian livestock populations. *Prev Vet Med.* 2015; 119(3- 4):211-215.
10. Cowie C, Marreos N, Gortázar C, Jaroso R, White P, Balseiro A. Shared risk factors for multiple livestock diseases: A case study of bovine tuberculosis and brucellosis. *Res Vet Sci.* 2014;12;97(3):491-497.
11. Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A. y Kobayashi, S. 2008. Evaluation of surveillance strategies for bovine brucellosis in Japan using a simulation model. *Preventive Veterinary Medicine* 86: 57-74.

12. Stringer, L., Guitian, F., Abernethy, D., Honhold, N. y Menzies, F. 2008. Risk associated with animals moved from herds infected with brucellosis in Northern Ireland. *Preventive Veterinary Medicine* 84: 72-84.
13. Calderón A., Angulo L., Tique V., Rodríguez V., Ensuncho C. Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. *Colombia ORINOQUIA*, 2015. 19 (2);203-209.
14. Ortiz, D. Prevalencia de Brucelosis en bovinos del camal municipal frigorífico de Ambato. Universidad Técnica de Ambato. Trabajo de investigación estructurado de manera independiente como requisito para optar por título de Médico Veterinario y Zootecnista, 2016.
<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/20943/1/Tesis%2046%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20391.pdf>
15. Zambrano M., Pérez M., Rodríguez X., Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo. 2016. *Rev. investig. vet. Perú* 27 (3)
<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i3.11995>
16. Paredes, S. 2012. Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, Recinto Cristal de Leila. Escuela politecnica del ejército: Departamento de ciencias de la vida - Santo Domingo.
<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/5566>
17. Fernández, A. "Seroprevalencia de Brucella abortus en Ganado Bovino Lechero en la Provincia de Leoncio Prado" Tesis para optar al título de Ingeniero Zootecnista Universidad Agraria de la Selva - Tingo María, 2002:pp 78.
18. Meza, A.; Morales, S.; Ara, M.; Manchego, A.; Calle, S.; Angulo, C. Seroprevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca. *Huánuco Rev. Inv. Vet. Perú* 2010; (2): 223-226.
19. Zavala, I.; Morales, S.; Huamán, H.; Angulo, C. Presencia de Brucelosis Bovina en el Distrito de Codo del Pozuzo, *Huánuco Rev. Inv. Vet. Perú*, 2011; 22(1): 72-75.
20. Chinguel, X. Prevalencia de Brucelosis bovina mediante la prueba serológica Rosa de Bengala, en el distrito de San José de Lourdes, provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca de setiembre a diciembre del 2017. Tesis para optar al título de Médica Veterinaria, facultad Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo - Lambayeque, 2017:pp 56

21. Bardales W., Prevalencia De Brucelosis Bovina En Las Cuencas Mashcón Y Chonta - Cajamarca, 2016. Tesis Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. 2017. <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1135/Tesis%20Miguel%20Bardales.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Espinoza, P. Cuantificación de brucelosis bovina en establos lecheros de crianza familiar en la campiña de Moche. Tesis para optar el título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Privada Antenor Orrego – UPAO. 2018: pp 65. <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/4116>
23. Huguet, C.; Delgado, A.; Calle, S.; González, A. Cuantificación de *Brucella* sp. en Bovinos de la Provincia de Canta, Lima, Rev. Inv. Vet Perú, 2005; 16 (2): 158-162.
24. Escobedo, L. y Falcón N. Características epidemiológicas y clínicas de infecciones por *Brucella melitensis* en pacientes del Hospital Nacional «Daniel A. Carrión», Callao, Perú (2007-2014) Rev. Inv. Vet. Perú, 2018; 29(3): 1018-1024 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i3>
25. Moral, M. 2013. Enfermedades infecciosas | Brucelosis Guía para el equipo de salud. pp.55. 2016. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guiamedic a-brucelosis.pdf>
26. García, C. (2010). Interacciones de *Brucella abortus* con la inmunidad innata del sistema nervioso central como determinante de patogénesis de la neurobrucelosis. Buenos Aires, Argentina: Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. Obtenido de http://digital.bl.fcen.uba.ar/download/tesis/tesis_n4646_GarciaSamar tino.pdf
27. INATEC (2016). Manual del protagonista. Sanidad animal. Parte 2. Enfermedades infecciosas más comunes en el ganado mayor y menor Instituto Nacional Tecnológico. JICA. https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Sanidad_animal_Part2.pdf
28. Rodríguez R., Contreras J, Benitez W, Guerrero K, Salcan H, Minda E, Circulating Strains of *Brucella abortus* in Cattle in Santo Domingo de Los Tsachilas Province - Ecuador. Front Public Health 2015;10:3:45.
29. Neta A, Mol J, Xavier M, Paixão T, Lage A, Santos R. Pathogenesis of bovine brucellosis. The Veterinary Journal. 2010; 184:146–155.

30. Acha, P. y Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Bacteriosis y micosis. Tercera edición. Washington D.C. Organización Mundial de la Salud, 2003; 1(580), pp.136 – 137.
31. Rivers, R., Andrews, E., Gonzales, A., Donoso, G., Oñate, A. Brucella abortus: immunity, vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. Arch. Med. Vet. 2006; 38(1):pp.7–18.
32. Dorneles E, Sriranganathan N, Lage AP. Recent advances in Brucella abortus vaccines. Vet Res. 2015;46(1):76.
33. Portal Agrario. Situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina .Lima. Ministerio de Agricultura.internet.19 de Diciembre 2007. Disponible en:
<http://www.senasa.gob.pe>
34. Maldonado, C. 2007. Sintomatología de la Brucelosis Bovina por Grupos Etarios. Buenos Aires – Argentina.
35. Radostits, O., Gay, C., Blood, D. y Hinchcliff, K. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9a ed. España: McGraw-Hill Interamericana, 2002; pp 1025-1042.
36. Langoni. 2000. Isolation of brucella spp from milk of brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais states. Brazilian. Journal of Veterinary Resources and Animal Science. 37(6). Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en:
http://www.academia.edu/7161595/Isolation_of_brucella_spp_from_milk_of_brucellosis_positive_cows_in_São_Paulo_and_Minas_Gerais_states
37. Garrido, M. y Garrido, A. 2002. Género Brucella. En: Vadillo S, Píriz S, Mateos E, eds. Manual de Microbiología Veterinaria. España: McGraw-Hill Interamericana. p 275-292.
38. Nielsen, K. 2002. Diagnostic of brucellosis by serology. Vet. Microbiol, pp. 90:447-459.
39. Samartino, L. 2002. Brucellosis in Argentina. Veterinary Microbiology, 90(1- 4). pp.71–80. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/11051448_Brucellosis_in_Argentina
40. INEI, Instituto Nacional de Estadística e Información. Producción pecuaria 2012 disponible en:
<http://www.inei.gob.pe/web/aplicaciones/siemweb/index.asp?id=>

41. Aguilar, S. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud Rev. Salud en Tabasco, México, 2005; 11(1-2) pp. 333-338.
42. Ortiz M. y Acosta M. Prueba de Rosa de Bengala y/o Tarjeta en el Diagnostico de Brucelosis Bovina.
<https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf>
43. Tapia Granados JA. Medidas de prevalencia y relación incidencia-prevalencia. Med. Clin (Barc), 1995; 105: 216-218

ANEXOS

Anexo 1: Registro de muestras según sector

	SECTOR	PREDIO	Nº BOV	MUESTRA	VACA	VAQLLONA	VAQLLA	NEG	H	BS	FL
1	Naranjito	I	68	6	5	1	0	X	6	0	0
		II	74	7	4	1	2	X	5	2	0
		III	61	5	5	0	0	X	2	3	0
2	San Lorenzo	IV	53	5	3	0	2	X	5	0	0
		V	34	3	3	0	0	X	2	1	0
		VI	35	3	0	3	0	X	3	0	0
		VII	45	4	2	0	2	X	3	1	0
		VIII	38	3	2	1	0	X	1	2	0
3	El Dorado	IX	44	4	2	2	0	X	4	0	0
		X	29	2	2	0	0	X	2	0	0
		XI	56	5	3	2	0	X	5	0	0
4	Zapallal	XII	162	14	8	5	1	X	4	2	8
		XIII	668	57	33	14	10	X	44	10	3
5	Copacabana	XIV	69	6	5	1	0	X	6	0	0
6	Gramadales	XV	1961	169	90	50	29	X	153	16	0
7	Roble	XVI	43	4	2	2	0	X	3	1	0
8	Arenitas	XVII	84	7	3	2	2	X	7	0	0
9	La Coronela	XVIII	80	7	4	0	3	X	5	2	0
10	Mariategui	IXX	72	6	4	2	0	X	6	0	0
11	Santa Patricia	XX	26	2	2	0	0	X	0	0	2
12	Maranga	XXI	137	12	9	1	2	X	7	3	2
13	Tambolago	XXII	31	3	2	1	0	X	3	0	0
14	Las Fresas	XXIII	50	4	4	0	0	X	4	0	0
15	Valle Hermoso	XXIV	14	1	1	0	0	X	1	0	0
16	San Juan	XXV	141	12	9	2	1	X	8	4	0
			4075	351	207	90	54		289	47	15

Test para el diagnóstico serológico de infecciones por Brucella

La sensibilidad del ensayo se ve afectada por la temperatura a la cual la reacción tiene lugar. Si el antígeno y el suero se utilizan inmediatamente después de ser sacados de la nevera el ensayo será menos sensible que si los reactivos se utilizan a temperatura ambiente. El antígeno puede deteriorarse si no se mantiene refrigerado.

Materiales y reactivos

- Antígeno: El antígeno se estandariza para dar una reacción positiva con una dilución 1/45 del Suero Standard Internacional pero negativa frente a la dilución 1/55 de dicho antisuero. El antígeno deberá almacenarse, protegido de la luz, entre +2 y +8°C y no deberá ser congelado.
- Suero control: un suero control que dé una reacción positiva débil, deberá ser valorado antes de iniciar el ensayo con el fin de verificar la sensibilidad de las condiciones del ensayo. Este suero deberá ser almacenado congelado en pequeñas alícuotas y llevado a temperatura ambiente antes de ser utilizado.
- Placas: Se recomienda que el ensayo se lleve a cabo en placas de hemaglutinación o en placas de vidrio o porcelana, divididas en cuadrados de 15 mm.
- Micropipetas dispensadoras de volúmenes de 25 ó 35 µL.
- Pajillos o varillas de vidrio.
- Agitadores de balanceo: En el caso de las placas de vidrio, puede utilizarse un agitador de placas que realice unas 30 oscilaciones por minuto, las placas de vidrio deberán construirse de forma que se ajusten perfectamente a la máquina. En el caso de las placas de hemaglutinación, deberá emplearse un agitador rotatorio.
- Aparato de lectura: Una caja con una superficie blanca translúcida iluminada desde abajo.

(10 ml)**Uso Veterinario****Método**

1. Equilibrar las muestras de suero y el antígeno a temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$); sólo deberá extraerse de la nevera, el volumen necesario de antígeno.
2. Dispensar una gota de cada muestra de suero en distintos pocillos/cuadrados de la placa de ensayo; 25 µL para placas de hemaglutinación y 25-30 µL para placas de vidrio.
3. Agitar bien la botella de antígeno y dispensar una gota sobre cada suero. El volumen de antígeno deberá ser igual al de suero.
4. Inmediatamente de añadir la última gota de antígeno, mezclar el suero con el antígeno con la ayuda de un pajillo o varilla de vidrio -en el caso de placas de vidrio- o mediante movimientos circulares -en el caso de placas de hemaglutinación-.
5. Colocar la placa sobre el agitador rotatorio o de balanceo y mantener en agitación durante 4 minutos.
6. Leer el resultado inmediatamente. En el caso de las placas de vidrio, el resultado será positivo o negativo de acuerdo a la presencia o ausencia de cualquier grado de aglutinación, una valoración más detallada podrá realizarse en el caso de la lectura de la placa de hemaglutinación, por ejemplo:
 - 0= no aglutinación, no formación de cercos, color rosa uniforme
 - 1= aglutinación ligeramente perceptible y/o alguna formación de cerco.
 - 2= aglutinación fina con un cerco definido, ligero aclaramiento.
 - 3= grumos gruesos, aclaramiento definido.

La experiencia en distinguir la presencia o ausencia de un cerco significativo sólo puede ser adquirida tras observar un gran número de muestras de suero positivas y negativas.

Reg. Perú SENASA N° B.02 7.07.1.0088

Bibliografía

Allen, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. & Verger, J.M. Serological methods (1968). En: Techniques for the Brucella Laboratory, ed. Allen, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. & Verger, J.M. (INRA, Paris), p. 63-136.

contra desastres y capacitación a los miembros de los diversos órganos del SINADECI, asignándoseles un porcentaje de los Recursos por Operaciones Oficiales de Crédito Interno, que mediante Decreto Legislativo N° 905 se destinó a la atención de emergencias;

En uso de las facultades conferidas por el inciso 19) del Artículo 118° de la Constitución Política del Perú;

Con el voto aprobatorio del Consejo de Ministros; y,
Con cargo a dar cuenta al Congreso de la República;

DECRETA:

Artículo 1°.- Sustitúyase la Segunda Disposición Complementaria del Decreto Ley N° 19338, adicionada por el Artículo 2° del Decreto Legislativo N° 905 por el texto siguiente:

"El Crédito Extraordinario Permanente y Revolvente que hace referencia el Artículo 1° del Decreto de Urgencia N° 092-96 se destinará para que el INDECI realice acciones de atención de emergencia que demanden las zonas en que se identifiquen los peligros, se determinen las vulnerabilidades y se evalúen los riesgos que impliquen un desastre en contra de la población; asimismo, para las acciones de educación y preparación de la población contra desastres y capacitación a los órganos del SINADECI. El pago de amortizaciones, intereses y otros gastos que se deriven del servicio de la deuda, serán asumidos por el Tesoro Público".

Artículo 2°.- Dentro del presupuesto contemplado en la fuente de financiamiento de Recursos por Operaciones Oficiales de Crédito Interno del INDECI para el año 2000 se asignará un monto equivalente al 6% de éste, a fin de abrir las metas presupuestales referidas a Educación y Preparación de la población contra desastres y capacitación a los órganos conformantes del SINADECI.

Artículo 3°.- El presente Decreto de Urgencia será refrendado por el Presidente del Consejo de Ministros y por el Ministro de Economía y Finanzas.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los ocho días del mes de julio del año dos mil.

ALBERTO FUJIMORI FUJIMORI
Presidente Constitucional de la República

ALBERTO BUSTAMANTE BELAUDE
Presidente del Consejo de Ministros

EFRAIN GOLDENBERG SCHREIBER
Ministro de Economía y Finanzas

7844

AGRICULTURA

Aprueban Reglamento para el Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina

DECRETO SUPREMO
N° 033-2000-AG

EL PRESIDENTE DE LA REPUBLICA

CONSIDERANDO:

Que, mediante Decreto Ley N° 25902, Ley Orgánica del Ministerio de Agricultura, se crea entre otros Organismos Públicos Descentralizados, al Servicio Nacional de Sanidad Agraria -SENASA;

Que, por Decreto Supremo N° 24-95-AG, se aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del SENASA;

Que, por Decreto Supremo N° 121-85-AG, se aprobó el Reglamento para la Campaña de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina, el mismo que por su antigüedad adolece de una serie de imperfecciones al haberse desactualizado;

Que, siendo de vital importancia para el país, la ejecución de las campañas para el control y erradicación de la brucelosis bovina, enfermedad zoonótica que no solo atenta contra la salud pública sino que es la causante de cuantiosas pérdidas económicas pecuarias al disminuir la producción láctea y cárnica; se hace necesario dictar la normatividad correspondiente, acorde con los avances tecnológicos actuales;

De conformidad a lo dispuesto en el inciso 8) del Artículo 118° de la Constitución Política del Perú, Ley N° 4638, Decreto Ley N° 25902, Decreto Supremo N° 24-95-AG y el Decreto Legislativo N° 560;

DECRETA:

Artículo 1°.- Apruébase el Reglamento para el Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina, que consta de 46 Artículos, 16 Capítulos y 3 Disposiciones Complementarias y que forman parte del presente Decreto Supremo.

Artículo 2°.- Facúltase al Ministerio de Agricultura para que, a través del Servicio Nacional de Sanidad Agraria, dicte las normas complementarias y/o modificaciones a que haya lugar, para la mejor aplicación del Reglamento que se aprueba mediante el artículo precedente.

Artículo 3°.- Derógase el Decreto Supremo N° 121-85-AG y demás disposiciones complementarias.

Artículo 4°.- El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro de Agricultura y entrará en vigencia al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veintiocho días del mes de junio del año dos mil.

ALBERTO FUJIMORI FUJIMORI
Presidente Constitucional de la República

BELISARIO DE LAS CASAS PIEDRA
Ministro de Agricultura

REGLAMENTO PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA BRUCELOSIS BOVINA

CAPITULO I

DE LOS OBJETIVOS

Artículo 1°.- Controlar y erradicar la Brucelosis bovina del territorio nacional, estableciendo progresivamente áreas libres de la enfermedad.

CAPITULO II

DE LA ZONA DE TRABAJO

Artículo 2°.- El Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina comprende todo el territorio nacional, dándose preferente atención a las áreas de crianza intensiva de ganado bovino lechero o de doble propósito.

CAPITULO III

DE LOS RESPONSABLES

Artículo 3°.- La Dirección General de Sanidad Animal - SENASA, tendrá la responsabilidad de planificar, dirigir, supervisar y evaluar el Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina.

Artículo 4°.- Las Direcciones del SENASA serán responsables del cumplimiento del Programa dentro del ámbito de sus jurisdicciones, para lo cual designarán un Médico Veterinario Oficial como responsable del mismo, así como al personal asistente que sea necesario.

Artículo 5°.- Los Médicos Veterinarios colegiados hábiles de práctica privada podrán participar a título personal o en forma asociada en el Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, previo registro ante el SENASA de su jurisdicción, para lo cual deberán cumplir con los requisitos contemplados en la Norma de

Registro de Médicos Veterinarios; así mismo deberán comprometerse a informar al responsable del Programa en su jurisdicción sobre los avances del trabajo realizado.

Artículo 6°.- Los Médicos Veterinarios oficiales del SENASA designados para el Programa de Control y Erradicación, supervisarán el cumplimiento de lo dispuesto en el presente Reglamento, en relación con las labores que llevan a cabo los Médicos Veterinarios autorizados.

CAPITULO IV

DE LA EJECUCION DEL PROGRAMA

Artículo 7°.- Las cuencas lecheras, en actual Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, continuarán sus actividades de acuerdo con el cronograma establecido por el SENASA; teniendo como objetivo la erradicación de la enfermedad en el más breve plazo.

Artículo 8°.- Las Direcciones del SENASA en cuyas jurisdicciones se viene ejecutando el Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina en forma "voluntaria", pasarán a convertirse en áreas de erradicación "obligatoria". Y en las áreas donde se inicia el Programa será de carácter obligatorio.

CAPITULO V

DE LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS

Artículo 9°.- 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).

Artículo 10°.- 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.

Artículo 11°.- En caso de animales reactivos positivos a la prueba de Rosa de Bengala, se utilizarán otras pruebas diagnósticas confirmatorias más sensibles y específicas como Fijación del Complemento y/o ELISA.

Artículo 12°.- Todo antígeno utilizado para el diagnóstico de la Brucelosis bovina deberá encontrarse oficialmente registrado y autorizado por la Dirección General de Sanidad Animal del SENASA.

Artículo 13°.- Ante la presencia de animales reactivos positivos a las pruebas diagnósticas, el Médico Veterinario responsable de la campaña procederá inmediatamente a la identificación de los mismos.

CAPITULO VI

DE LA VACUNACION DE TERNERAS

Artículo 14°.- Como medida obligatoria de control en la lucha contra la Brucelosis bovina se establece la

vacunación de las terneras en los predios o establos con alta prevalencia, cuyas edades se encuentran comprendidas entre los 3 y 8 meses de edad, utilizando la vacuna autorizada. Las terneras vacunadas serán identificadas mediante arete, tatuaje u otra aprobado por el SENASA.

Artículo 15°.- Se podrá autorizar la vacunación de terneras mayores de 8 meses de edad, previa fundamentación del Médico Veterinario oficial del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina. Los animales machos no deberán vacunarse cualquiera sea su edad.

Artículo 16°.- Las vacunaciones serán realizadas exclusivamente por Médicos Veterinarios oficiales o de práctica privada autorizados por el SENASA.

CAPITULO VII

DEL SACRIFICIO Y REEMPLAZO DE ANIMALES POSITIVOS

Artículo 17°.- Los animales positivos de conformidad con el Artículo 13° serán remitidos a los mataderos frigoríficos que señale la dependencia del SENASA de la jurisdicción, los que deberán reunir los requisitos mínimos de seguridad e higiene.

Artículo 18°.- El reemplazo de los animales positivos podrá hacerse:

a) Con animales del país, provenientes de hatos o establos declarados oficialmente "Libre de Brucelosis bovina"; y

b) Con animales importados, siempre y cuando vengan acompañados de un certificado oficial del país de origen, que acredite que proceden de "Hatos Oficialmente Libres de Brucelosis bovina", además hayan sido negativos a la prueba diagnóstica realizada durante la cuarentena, solicitada por el SENASA.

Artículo 19°.- Sólo se permitirá el ingreso de nuevos animales de reemplazo a un establo o hato, si cumplen con lo estipulado en el Artículo 18° y cuando los animales positivos a las pruebas diagnósticas hayan sido conducidos al canal o matadero frigorífico, de conformidad con lo establecido en el Artículo 17° de este Reglamento.

CAPITULO VIII

DE LOS ESTABLOS RECONOCIDOS COMO LIBRES DE BRUCELOSIS BOVINA

Artículo 20°.- Un hato o establo reconocido como "Libre de Brucelosis bovina", es aquel que ha cumplido con todos los requisitos establecidos en el Reglamento de Control y Erradicación y que su población animal haya resultado negativo al diagnóstico serológico de la Prueba Rosa de Bengala, Fijación de Complemento y/o ELISA.

Artículo 21°.- Para otorgar el Certificado Oficial de "Libre de Brucelosis bovina", a hatos o establos en áreas de control y erradicación nuevas, se adoptarán los siguientes criterios:

a) En rebaños o hatos, en los que la prueba diagnóstica inicial (Rosa de Bengala) sea negativa, podrá otorgarse el Certificado Oficial de "Libre de Brucelosis bovina", realizando una prueba adicional, no antes de 6 meses de la inicial ni después de los 12 meses.

b) En caso de emplear la prueba de anillo en leche, se otorgará el Certificado con tres pruebas negativas efectuadas con no menos de 90 días de intervalo, más una prueba serológica de toda la población hembra mayor de 18 meses de edad del estable.

Artículo 22°.- El Certificado Oficial de "Libre de Brucelosis bovina", tendrá una validez de doce meses.

Artículo 23°.- Vencida la vigencia del Certificado a que se refiere el artículo anterior precedente será renovado por un plazo igual y así sucesivamente, previo cumplimiento de todas las pruebas serológicas y requisitos que determina el presente Reglamento. La fecha inicial de vigencia del Certificado renovado será la correspondiente a la del siguiente día en que termina la vigencia del Certificado anterior.

Artículo 24°.- Pierde su certificación de "Libre de Brucelosis bovina" en forma temporal, cuando el hato o estable que después de haberlo logrado incurra en las siguientes situaciones:

a) Que se halle un animal positivo a las pruebas diagnósticas.

b) Cuando se introduzca animales de uno o más hatos o establos que carezcan de certificación oficial de "Libre de Brucelosis bovina".

Para recobrar su reconocimiento oficial de "Libre de Brucelosis bovina", tendrán que realizar la prueba diagnóstica serológica correspondiente a todo el ganado mayor de 12 meses de edad y obtener resultados negativos, dentro de los 60 días.

CAPITULO IX

DE LAS AREAS LIBRES

Artículo 25°.- Se reconocerá como "Área Libre de Brucelosis bovina", cuando los hatos o establos que allí se encuentran posean la condición de "Libre de Brucelosis bovina".

Artículo 26°.- Se conservará la calificación de "Área Libre de Brucelosis bovina" según lo establecido en las Normas de la Oficina Internacional de Epizootias OIE.

CAPITULO X

DE LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

Artículo 27°.- La Dirección General de Sanidad Animal del SENASA implementará, dentro del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, lo correspondiente a Brucelosis bovina.

Artículo 28°.- Las Dependencias del SENASA como parte del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, serán responsables de hacer llegar información al nivel central. Así mismo estas informaciones serán consolidadas semestralmente y se hará de conocimiento a las instituciones interesadas.

Artículo 29°.- El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica conjuntamente con la Dependencia del SENASA de su jurisdicción, propondrá a la Dirección General de Sanidad Animal la declaratoria de Áreas Libres de Brucelosis bovina.

CAPITULO XI

DE LA EDUCACION SANITARIA

Artículo 30°.- La Dirección General de Sanidad Animal del SENASA elaborará el Plan de Educación Sanitaria a ser aplicado en el Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina.

Artículo 31°.- Las Dependencias del SENASA, serán responsables de la ejecución del Plan de educación Sanitaria en las áreas bajo su jurisdicción, con la participación de las organizaciones, empresas privadas y asociaciones de gremios de productores.

Artículo 32°.- La Dirección General de Sanidad Animal del SENASA proveerá a las Direcciones de los órganos desconcentrados los equipos y materiales necesarios para la ejecución del Plan de Educación Sanitaria.

CAPITULO XII

DE LAS INSPECCIONES Y DISPOSICIONES SANITARIAS

Artículo 33°.- El personal del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, previa identificación y acreditación puede ingresar a los establecimientos ganaderos, con el fin de inspeccionar y verificar que se cumplan las normas establecidas en el presente Reglamento.

Artículo 34°.- Para el cumplimiento de las disposiciones sanitarias que establece el presente Reglamento, el propietario o personal responsable del manejo del hato o estable, proporcionará el personal auxiliar que sea necesario.

CAPITULO XIII

DEL TRANSITO INTERNO DE GANADO

Artículo 35°.- Ningún animal podrá movilizarse si no está amparado por el correspondiente Certificado Sanitario de Tránsito. En caso de que el ganado no contara con el Certificado Sanitario de Tránsito correspondiente será inmovilizado para deslindar responsabilidades y se aplicarán las sanciones que señala el Artículo 42°.

Artículo 36°.- Los animales que reaccionen en forma positiva a la prueba diagnóstica para detección de Brucelosis, sólo podrán ser movilizados a los mataderos frigoríficos autorizados, de conformidad con lo establecido en el Artículo 17°.

CAPITULO XIV

DE LAS FERIAS, REMATES Y EXPOSICIONES

Artículo 37°.- El Servicio Nacional de Sanidad Agraria, en cumplimiento a lo establecido en la legislación vigente, sólo permitirá participar en ferias y exposiciones de ganado para cría, a los animales que procedan de hatos o establos oficialmente reconocidos como "Libre de Brucelosis bovina".

CAPITULO XV

DE LOS ESTIMULOS

Artículo 38°.- Cada Dependencia del SENASA en su respectiva jurisdicción publicará semestralmente preferentemente en un diario de la localidad la relación de los hatos que hayan logrado su certificación oficial como "Libre de Brucelosis bovina", así como aquellos que hayan perdido su condición de tales. En ambos casos también se informará oficialmente a las plantas procesadoras.

Artículo 39°.- Los establos con certificación oficial de "Libre de Brucelosis bovina" gozarán de la bonificación correspondiente al 1% del precio base por cada Kg. de leche fresca que recepcionen las plantas procesadoras.

Artículo 40°.- Los propietarios cuyos establos estén inscritos en el Programa de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina con resultados positivos a dicha enfermedad, se harán acreedores a los beneficios que se otorgue, con el objeto de proporcionar la adquisición de vientres de remplazo.

CAPITULO XVI

PROHIBICIONES Y SANCIONES

Artículo 41°.- Queda prohibida la venta directa de leche cruda entera, al público, proveniente de establos sin acreditación oficial de "Libre de Brucelosis bovina". La infracción de esta disposición se sancionará de la siguiente manera: la primera vez con una multa equivalente a una Unidad Impositiva Tributaria vigente.

En caso de reincidencia se duplicará la multa; pudiéndose llegar a solicitar por parte de la Autoridad

Oficial ante la Municipalidad respectiva, la cancelación de la licencia.

Artículo 42°.- El incumplimiento de los Médicos Veterinarios hábiles colegiados, registrados de práctica privada que participan en el Programa, a cualquiera de los requisitos o normas del presente Reglamento dará motivo a la suspensión temporal de hasta un año en su intervención en el Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, o a la cancelación definitiva de su inscripción de acuerdo a la gravedad de la infracción cometida y será notificado ante el Colegio Médico Veterinario Departamental para los fines correspondientes.

Artículo 43°.- Los que se negaren a someter a sus animales a la prueba que se establece en este Reglamento, los que alteren los resultados, los que permitieran o facilitasen la salida o introducción indebida de animales en un hato, o permitan su ilícito traslado de un lugar a otro, y en general todos aquellos que en alguna forma infrinjan las disposiciones del presente Reglamento serán sancionados con una multa equivalente al 4 % de la UIT por cada animal, que será impuesta por la Dependencia del SENASA correspondiente.

Artículo 44°.- Las multas serán impuestas mediante Resolución previo informe técnico por la Dependencia del SENASA correspondiente. Dicha resolución podrá ser objeto de recursos impugnativos señalados por Ley, los que serán absueltos en última instancia administrativa por la Jefatura Nacional del SENASA.

Artículo 45°.- El monto de la multa será depositada por el infractor en el Banco de la Nación, en una cuenta corriente a nombre del SENASA dentro de los quince (15) días de haber sido notificado a través de la resolución consentida o ejecutoriada, bajo apercibimiento de hacerse efectiva por la vía coactiva.

El comprobante que otorgue el Banco de la Nación por el empoce, deberá entregarla el obligado a la Dirección del SENASA de su jurisdicción.

Artículo 46°.- El ganadero que enviare ganado reactor positivo a una feria o exposición, o comercialización para reproducción, será sancionado con 10 UIT, reservándose el derecho de iniciar las acciones legales pertinentes por el SENASA y/o la parte afectada.

DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS

Primera.- El SENASA, queda autorizada para concertar convenios con otras entidades del Estado, Universidades, Empresas Privadas y asociaciones de productores, para el mejor cumplimiento del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina de conformidad con el presente Reglamento.

Segunda.- El SENASA, dictará las Normas y demás disposiciones que fueran necesarias para dar cumplimiento a lo estipulado en el presente Reglamento. Asimismo las modificaciones para mejor cumplimiento del presente reglamento, podrán ser realizadas por Resolución Jefatural.

Tercera.- Determinada la prevalencia de la Brucelosis bovina el SENASA, dentro del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina fijará el tiempo que dure el proceso de erradicación a nivel nacional.

7831

ECONOMIA Y FINANZAS

Autorizan viaje de funcionarios del Ministerio a Colombia, para participar en el "Curso de Preparación y Evaluación de Proyectos de Desarrollo Local"

RESOLUCION SUPREMA
N° 192-2000-EF

Lima, 8 de julio del 2000

CONSIDERANDO:

Que, los señores ALBERTO PEDREROS GOMEZ, Subdirector (e) de Gobiernos Locales de la Dirección de Presupuesto de Organismos Regionales, Gobiernos Locales y de Apoyo al Desarrollo Regional y Local de la Dirección Nacional del Presupuesto Público y MARCOS WALTER FELIX CHOQUECAHUANA, Economista IV de la Dirección de Análisis y Negociaciones de la Dirección General de Crédito Público del Ministerio de Economía y Finanzas, viajarán a la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia, para participar en el "Curso de Preparación y Evaluación de Proyectos de Desarrollo Local", organizado por el Instituto Latinoamericano y del Caribe de Planificación Económica y Social - ILPES y la Agencia Española de Cooperación Internacional - AECI, a llevarse a cabo del 10 al 21 de julio del año 2000;

Que, el Ministerio de Economía y Finanzas, con cargo a su presupuesto, asumirá los gastos no cubiertos por la Agencia Española de Cooperación Internacional - AECI;

De conformidad con lo dispuesto por el Decreto Legislativo N° 560 y Decretos Supremos N°s. 163-81-EF, 053-84-PCM, 074-85-PCM, 031-89-EF, 135-90-PCM y 037-91-PCM; y,

Estando a lo acordado;

SE RESUELVE:

Artículo 1°.- Autorizar a los señores ALBERTO PEDREROS GOMEZ, Subdirector (e) de Gobiernos Locales de la Dirección de Presupuesto de Organismos Regionales, Gobiernos Locales y de Apoyo al Desarrollo Regional y Local de la Dirección Nacional del Presupuesto Público y MARCOS WALTER FELIX CHOQUECAHUANA, Economista IV de la Dirección de Análisis y Negociaciones de la Dirección General de Crédito Público del Ministerio de Economía y Finanzas, a ausentarse del país del 9 al 21 de julio del año 2000, para los fines expuestos en la parte considerativa de la presente Resolución.

Artículo 2°.- Los gastos que irrogue el cumplimiento de la presente Resolución, no cubiertos por la Agencia Española de Cooperación Internacional - AECI, serán con cargo al Presupuesto de la Unidad Ejecutora 001 MEF - Administración General del Pliego Ministerio de Economía y Finanzas, de acuerdo al siguiente detalle:

Señor Alberto Pedreros Gómez	
Viáticos	: US\$ 200,00
Pasajes	: US\$ 388,22
Tarifa CORPAC	: US\$ 25,00

Señor Marcos Walter Félix Choquecahuana	
Viáticos	: US\$ 200,00
Pasajes	: US\$ 388,22
Tarifa CORPAC	: US\$ 25,00

Artículo 3°.- La presente Resolución no da derecho a exoneración de impuestos o de derechos aduaneros, de ninguna clase o denominación.

Regístrese, comuníquese y publíquese.

Rúbrica del Ing. Alberto Fujimori
Presidente Constitucional de la República

EFRAIN GOLDENBERG SCHREIBER
Ministro de Economía y Finanzas

7846

Autorizan viaje de funcionaria de la CONASEV a Costa Rica para participar en el "Programa de Alta Gerencia 2000-PAG"

RESOLUCION SUPREMA
N° 193-2000-EF

Lima, 8 de julio del 2000