



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

**“Prevalencia de brucelosis bovina mediante el método Rosa de Bengala en
el distrito de la Ramada provincia de Cutervo 2017”.**

TESIS:

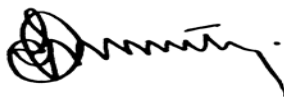
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICA VETERINARIA.

INVESTIGADOR: Bach. M. V. Leni Yacela Quispe Molocho.

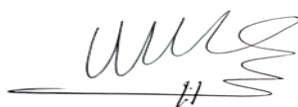
ASESOR: M. V. Dionicio Baique Camacho

LAMBAYEQUE – PERÚ 2019



Dr. José Luis Vílchez Muñoz

Presidente



M.V. Elmer Plaza Castillo

Secretario



M.V. Zully Genoveva Montenegro Esquivel.

Vocal



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° 00122

Siendo las 10:15 a.m del día Viernes 8 de Agosto del 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:

Dr. José Luis Vilchez Muñoz	Presidente
M.V. Elmer Ernesto Plaza Castillo	Secretario
M.V. Zully Genoveva Montenegro Esquivel	Vocal
M.V. Dionicio Baique Camacho	Asesor

Designados por Decreto N° 077-2017-UI-FMV de fecha 12 de Diciembre del 2017, para recepcionar el trabajo de tesis "PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA MEDIANTE EL MÉTODO ROSA DE BENGALA EN EL DISTRITO DE LA RAMADA- PROVINCIA DE CUTERVO 2017" presentado por la Bachiller Leni Yacela Quispe Moloch, aprobado con Decreto N° 001-2018-UI-FMV, del 03 de Enero de 2018.

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 trabajo de tesis con el calificativo de BUENO.

No existiendo otro punto a tratar, se procedió a levantar la presente acta en señal de conformidad, siendo las 11:20 a.m. del mismo día.

Por lo tanto, la Bachiller Leni Yacela Quispe Moloch, está apta para recibir el Título de Médica Veterinaria.

Dr. José Luis Vilchez Muñoz
Presidente

M.V. Elmer Ernesto Plaza Castillo
Secretario

M.V. Zully Genoveva Montenegro Esquivel
Vocal

M.V. Dionicio Baique Camacho
Asesor



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD MEDICINA VETERINARIA
UNIDAD DE INVESTIGACION



DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

yo, Leni Yacela Quispe Molochio
investigador principal, y M.V. Dionicio Baigue Camacho asesor
del trabajo de investigación "Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante el
método Rosa de Bengala en el distrito de La Ramada provincia
de Cutervo- 2017"", 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, 12 de Octubre de 2020

Nombre Investigador (es) Leni Yacela Quispe Molochio

Nombre del Asesor M.V. Dionicio Baigue Camacho

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a Dios por la vida y la salud para poder seguir adelante cumpliendo con mi meta trazada, iluminando mi mente y mi camino día a día para superar los obstáculos que se me presentaron durante el transcurso de mi carrera.

Con todo mi amor a mis padres Hernesto Quispe Monsalve y Sarela Molocho Tello, por ser los dos grandes pilares en mi vida, por su apoyo incondicional en cada momento de mi vida, por sus enseñanzas y su gran amor.

A mis hermanos, Hanamel Edar Quispe Molocho, Jesús Leonel Quispe Molocho, por su apoyo, por el aliento brindado y los ánimos ya que para llegar a una meta no hay obstáculos que te pueden vencer. A mi angelito Erlis Marlid Quispe Molocho que siempre me ha cuidado desde el cielo.

A mis dos amores: Jimny Maslucan Chasquibol por el apoyo, su comprensión, su cariño, su paciencia y al amor de mi vida mi hija Emily Gabriela Maslucan Quispe quien es el motor que mi impulsa a lograr todo lo que me proponga.

AGRADECIMIENTO

- ❖ A la una Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo por ser el alma mater de mi formación profesional.
- ❖ A la facultad de Medicina Veterinaria, a los docentes que me brindaron sus conocimientos y sus sabias enseñanzas durante mi formación profesional.
- ❖ Mi más sincero agradecimiento al M.V. DIONICIO BAIQUE CAMACHO, patrocinador del presente trabajo de investigación, por su orientación, por sus conocimientos impartidos durante la ejecución del presente trabajo.
- ❖ A la M.V. JESSICA MILAGROS QUEVEDO ODIAGA por su apoyo incondicional y desinteresado durante la ejecución de mi tesis.
- ❖ A la Microbióloga Ester por su apoyo desinteresado en el proceso de las muestras y sus conocimientos brindados.
- ❖ A todos mis amigos, por brindarme su apoyo, su compañía durante los años de mi formación profesional.
- ❖ Finalmente, mi profundo agradecimiento a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para la ejecución del presente trabajo de tesis

CONTENIDO

PAG.

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
CONTENIDO	III
ÍNDICE DE CUADROS.....	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEORICO	2
2.1 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	2
2.2 BASES TEORICAS	5
2.1.1. Datos generales	5
2.1.2. Agente etiológico	6
2.1.3. Taxonomía.....	6
2.1.4. Morfología	6
2.1.5. Características bioquímicas del genero <i>Brucella</i>	7
2.1.6. Estructura antigénica.....	7
2.1.6. Patogenicidad	10
2.1.7. Transmisión	11
2.1.8. Síntomas	13
2.1.9. Diagnostico	13
2.1.9. Tratamientos.....	14
2.1.10. Prevención y control.....	15
2.1.11. Impacto socioeconómico	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN.....	18
3.2. MATERIALES	18
3.2.1. MATERIALES DE OFICINA	18
3.2.2. Materiales de campo.....	18
3.2.3. Materiales de laboratorio	19
3.2.4. Material biológico	19
3.3. METODOLOGÍA	20
3.3.1. Obtención de las muestras	20
3.3.2. Detección de <i>Brucelosis Bovina</i>	20
3.3.4. Presentación de los datos	23
3.3.5. Análisis estadísticos de los datos	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25

4.1.	PREVALENCIA GENERAL DE BRUCELLOSIS BOVINA MEDIANTE EL METODO ROSA DE BENGALA EN EL DISTRITO DE LA RAMADA PROVINCIA DE CUTERVO 2017.	25
4.2.	PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA MEDIANTE EL MÉTODO ROSA DE BENGALA SEGÚN LUGAR DE PROCEDENCIA EN EL DISTRITO LA RAMADA-CUTERVO - 2017. 27	
4.3.	PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN EDAD DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA – CUTERVO 2017.....	29
4.4.	PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN SEXO DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA- CUTERVO 2017.	31
4.5.	PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN RAZA DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA -CUTERVO-2017.	32
V.	CONCLUSIONES.....	35
VI.	RECOMENDACIONES.	36
	BIBLIOGRAFÍA	37
	ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°	PAG.
Cuadro 1: Prevalencia general de Brucelosis Bovina en el distrito La Ramada –Cutervo 2017.....	25
Cuadro 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito la Ramada – Cutervo- 2017.....	27
Cuadro 3: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito la Ramada – Cutervo- 2017.....	29
Cuadro 4: Prevalencia de Brucelosis Bovina según sexo en el distrito La Ramada – Cutervo- 2017.	31
Cuadro 5: Prevalencia de brucelosis bovina según la raza del ganado bovino en el distrito La Ramada- Cutervo 2017.....	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°	PAG.
Gráfico 1: Prevalencia general de Brucelosis Bovina en el distrito La Ramada- Cutervo 2017.....	25
Gráfico 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito de Ramada- Cutervo- 2017.....	28
Gráfico 3 Prevalencia de brucelosis bovina según edad en el distrito la Ramada – Cutervo-2017. .	30
Gráfico 4: Prevalencia de brucelosis bovina según sexo del ganado bovino del distrito La Ramada - Cutervo- 2017 .	32
Gráfico 5: Prevalencia de Brucelosis Bovina según raza del ganado bovino en el distrito La Ramada-Cutervo 2017.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	PAG.
1: Obtención de la muestra sanguínea.....	22
2: Proceso de las muestras.....	22
3: Resultado de la reacción.	23

RESUMEN

La brucelosis bovina es una enfermedad que está presente en todas partes del mundo y que ocasiona grandes pérdidas económicas y peligro para la salud en general, el objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de Brucelosis Bovina en el distrito la Ramada, provincia de Cutervo – Región Cajamarca. Se muestrearon 187 vacunos entre machos y hembras y los sueros sanguíneos se obtuvieron por punción de la vena coxígea con el sistema vacutainers y analizados con la prueba Rosa de Bengala, confirmada mediante la prueba de fijación de complemento. La seroprevalencia estadística obtenida fue de $10.16\% \pm 4.33\%$, con 19 casos positivos y 168 casos negativos, no observándose diferencias estadísticas significativas por efectos de lugar, edad, sexo y raza.

Palabras claves: Brucelosis bovina, Rosa de Bengala, suero sanguíneo, Fijación de complemento.

ABSTRACT

Bovine brucellosis is a disease that is present in all parts of the world and that causes great economic losses and danger to health in general, the objective of the present study was to determine the seroprevalence of Bovine Brucellosis in the Ramada district, province of Cutervo - Cajamarca region. 187 cattle were sampled between males and females and blood sera were obtained by puncturing the coxigeal vein with the vacutainers system and analyzed with the Rose Bengal test, confirmed by the complement fixation test. The statistical seroprevalence obtained was $10.16\% \pm 4.33\%$, with 19 positive cases and 168 negative cases, with no significant statistical differences being observed due to place, age, sex and race.

Key words: Bovine brucellosis, Rose Bengal, blood serum, Complement fixation.

I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis también conocida como fiebre de Malta, fiebre ondulante o del mediterráneo es una enfermedad de distribución mundial y aunque ha sido erradicada en países industrializados continúa siendo aún hoy, un grave problema para la Salud Pública, la producción animal y las economías de algunas regiones. En América Latina los países con mayor prevalencia son Argentina, México y Perú (1).

La brucelosis es una enfermedad infecciosa crónica de los animales y el hombre. Es producida por varias especies de brúcela (2). En este grupo se encuentra tres especies relacionadas entre sí: *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis* (3).

Las *Brucellas* se localizan principalmente en los órganos del tracto genital en el que produce abortos en las hembras y orquitis y epididimitis en los machos, procesos que, todos ellos, pueden ser causa de esterilidad permanente (4). Clínicamente, la enfermedad se caracteriza por uno o más de los síntomas siguientes: aborto, retención de placenta, orquitis, epididimitis y, raramente artritis, con excreción de los microorganismos en las descargas uterinas y en la leche. El diagnóstico depende del aislamiento de *Brucella* ya sea de material de los abortos, de las secreciones de la ubre, de tejidos analizados postmortem y suero sanguíneo (5).

Existe una variedad de pruebas de diagnóstico, pero la prueba más utilizada en los programas de control y erradicación de brucelosis bovina es la prueba Rosa de Bengala tiene el pH bajo, lo cual permite la aglutinación de la IgG, es fácil de utilizar y es una prueba de campo y la prueba de fijación del complemento que es una prueba sensible y específica detecta anticuerpos de IgG (1).

Desde el punto de vista médico, sanitario, económico y laboral, la brucelosis presenta un problema, de interés pecuario y humano extendido por numerosos países y se presenta en los cinco continentes con variabilidad diversa (6) (2). Y no habiéndose realizado trabajos de investigación de prevalencia de brucelosis bovina en el distrito de La Ramada, que cuenta con una población de 1500 bovinos (anexo1) criados de forma extensiva y con la presencia de casos de aborto en el último tercio de gestación y terneros nacidos muertos, el presente trabajo tiene como objetivo determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina en bovinos jóvenes y adultos del distrito de La Ramada, mediante la prueba Rosa de Bengala.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

A nivel internacional:

La brucelosis bovina presenta un problema mundial de importancia para profesionales de la salud animal y humana, económica y laboral, por ello OIE estableció los programas de control y erradicación de brucelosis bovina a través de SENASA, en los países de América se han realizado investigaciones acerca de su prevalencia e incidencia, no solo en vacuno sino también en caprinos. SENASA en el año 2012 realizó un estudio en Costa Rica a 765 hatos (257 hatos con bovinos de Carne, 247 hatos con bovinos de Leche y 261 hatos con bovinos de doble propósito), muestreando a 13078 bovinos (bovinos de carne 4515, bovinos de leche 3872 y bovinos de doble propósito 4691), resultando positivos 75 bovinos (bovinos de carne 9, bovinos de leche 15 y bovinos de doble propósito 51) la prevalencia es de 0.57% (bovinos de carne 0.20%, bovinos de leche 0.39% y bovinos de doble propósito 1.09%) (7). SENASA en el año 2014 realizó un estudio para la determinación de prevalencia de Brucelosis Bovina en zonas de mayor producción en Argentina, muestreando a 30508 bovinos de ellos 246 dieron positivos, con una prevalencia de 0,81%. Total de predios muestreados 810, resultando 100 predios positivos, la prevalencia interpredial fue de 12.35% (8).

Brucelosis Bovina se puede encontrar en varios países de Sudamérica de forma endémica, causando un problema sanitario importante; en esta región la *Brucella abortus* presenta una mayor prevalencia en animales de ganado lechero, con valores que oscilan entre 0,1% y 20,3% (9).

En el año 2015 mediante el Contrato plan Nariño realizado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) se analizaron 24018 sueros sanguíneos, mediante la prueba tamiz de fluorescencia polarizada (FPA) y la prueba confirmatoria de ELISA competitiva, de ellos 47 animales resultaron positivos con una prevalencia de 0.19% (10).

En el año 2016 se seleccionaron 2369 bovinos de la provincia de Manabí, Ecuador de ellos la prevalencia para ganados mayores de 5 años son de 0.0001%, y para hembras la prevalencia es de 0.05%, ganado dedicado a la producción de leche presenta 0.05% de prevalencia, ganado que ingresa sin pruebas a los hatos con prevalencia de 0.05% (11).

Calderón en el año 2015 realizó un estudio de seroprevalencia de brucelosis bovina en dos regiones del Caribe colombiano, se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de cortes transversales en áreas rurales de los municipios Pijiño del Carmen (Magdalena) y María la Baja (Bolívar). Se recolectaron 246 muestras de suero bovino para el diagnóstico de brucelosis bovina. Se implementó la prueba Rosa de Bengala y los casos positivos se confirmaron con la prueba de Elisa Competitiva. En María la Baja se estableció una seroprevalencia de 1.36% con RB y 0.68% C-Elisa y en Pijiño del Carmen del 11% con RB y del 6% con C-Elisa (12).

En el 2017 se colectaron la sangre de 272 bovinos de 9 cantones de la Provincia de Chinchipe, de ellos un positivo a la prueba Rosa de Bengala, y 8 resultaron sospechosos a dicha prueba. A la prueba de PCR resultaron 20 positivos indicando una prevalencia de 7.4% (13).

A nivel nacional:

En el Perú no es indiferente a esta enfermedad ya que en diferentes partes de nuestro país se han realizado investigaciones. En el año 2004 Huegunt realizó un estudio a 486 bovinos en la provincia de Canta - Lima donde utilizó la prueba Rosa de Bengala y la prueba de Fijación de Complemento donde determinó la presencia de *Brucella spp.* Dando como resultado una prevalencia menor al 1% en el ganado bovino, también indicó que: el manejo de los animales con relación al movimiento continuo de éstos. Es decir que los animales que se encuentran en seca y animales jóvenes son llevados a las alturas, movilizándose a diferentes zonas en varios distritos y, si uno de ellos presentaba la infección, éste podría diseminar la enfermedad en varios distritos. Seguidamente menciona que el grado de conocimiento que presenta el ganadero de la zona, ya que se observa el gran desconocimiento de la brucelosis bovina así como ocurre con otras enfermedades de gran importancia zoonótica como es el caso de tuberculosis bovina (14).

En el 2008 Mesa realizó un estudio a 3221 bovinos en el distrito de Puerto Inca- Huánuco, donde utilizó la prueba Rosa de Bengala dicha prueba no determinó ningún reactor positivo a anticuerpos contra brucelosis bovina (15).

En el año 2013 SENASA realizó un boletín estadístico, dando a conocer las notificaciones registradas por sospecha de enfermedad infecciosas que resultaron positivas a nivel nacional, dentro de estas enfermedades esta Brucelosis Bovina, reportándose 29 animales sospechosos a Brucelosis Bovina de los departamentos de Cajamarca, Ica, La Libertad, Lima, Loreto,

Pasco, Puno, Tacna y Ucayali, de estos 5 animales fueron positivos a la prueba Rosa de Bengala que representa 1,4% de enfermedades infecciosas y un 17% de prevalencia (16).

A nivel regional:

En el 2016 se realizó un trabajo de investigación en vacunos en las cuencas de Mashcón y Chonta entre los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2016, para 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 determinando una prevalencia de 0.13% (17).

En el 2017 realizó un estudio mediante la prueba Rosa de Bengala en el distrito de San José de Lourdes, provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca muestreando a 102 animales, revelando una prevalencia de 0% (18).

A nivel provincial.

En el año de 1993 se realizó un trabajo de investigación en el distrito de San Andrés – Provincia de Cutervo, departamento de Cajamarca. Reportó una prevalencia de Brucelosis Bovina de 3.85%, luego de haber procesado mediante la prueba de seroaglutinación en placa el suero sanguíneo obtenido de 260 bovinos, además que la incidencia fue mayor en las razas: Brown Suis y Fleckvick en edades comprometidas entre 3 y 6 años. El mayor o menor casos positivos, es la utilización de un animal macho como reproductor estos son considerados como fuente de infección. La prevalencia de brucelosis bovina guarda relación significativa con la edad ya que es más frecuente en animales sexualmente maduros, por tener la brucella una mayor área de localización (19).

SENASA a través del Programa de Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina 2015, realizó un ‘muestreo en toda la provincia de Cutervo a 120 animales con la prueba Rosa de Bengala, dando como resultado 5 animales positivo a la prueba Rosa de Bengala con una prevalencia de 4.2% (20).

2.2 BASES TEORICAS

2.1.1. Datos generales

La brucelosis es una enfermedad infecciosa aguda de etiología bacteriana producida por microorganismos del género *Brucella*. Las *Brucellas* se localizan principalmente en los órganos del tracto genital en el que producen abortos en las hembras y orquitis y epididimitis en los machos, procesos que, todos ellos, pueden ser causa de esterilidad permanente (4).

La brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa de distribución mundial que sigue siendo una de las principales zoonosis por su repercusión en la economía pecuaria, debido a la presencia de abortos, partos prematuros, crías débiles, infertilidad temporal, y merma en la producción de leche. En América latina, está considerada como una zoonosis importante por su morbilidad y prevalencia sobre todo en ganado lechero (21). Conocida antiguamente como fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo, fiebre ondulante, enfermedad de Bang, y más recientemente nombrada por el organismo que la produce, la brucelosis. A David Bruce se le atribuye la identificación de *Brucella* durante su estancia en la isla de Malta, donde fue enviado como cirujano del cuerpo médico de la Armada Real Británica. Malta, es una isla pequeña localizada en el centro del Mediterráneo al sur de Italia, al oriente de Túnez y al norte de Libia. Bruce observó casos de una enfermedad que causaba fiebre que alcanza los 41°C en las noches y que se normalizaba en el día. Comenzó por adquirir un microscopio, donde observó cocos muy pequeños en el bazo de un soldado que murió a causa de la enfermedad. Logró aislar el “micrococo” siguiendo los postulados de Koch y reportó sus observaciones en 1887; reprodujo la enfermedad en monos, quienes mostraron fiebre y algunos de ellos murieron (22).

En 1896 Bang, un veterinario danés descubrió el agente causal del aborto bovino, que en un futuro se denominó *Brucella abortus* y en 1905 Themistokles Zammit documentó el papel que tenían las cabras y el consumo de sus productos, como fuente de contagio para adquirir la enfermedad. En 1914 Traum aisló un microorganismo en los fetos abortados de cerdos que denominó *B. suis*. En 1920 la bacterióloga norteamericana Alice Evans comprobó la semejanza de los microorganismos aislados por Bruce, Bang (23). Aliy Traum sugirió designar el agente causal con el nombre de *Brucella*, en honor a Sir David Bruce.

Hoy en día, a más de 100 años de que Zammit asociara a *Brucella* con la leche de cabra, la fiebre de malta sigue causando enfermedad tanto en animales como en el hombre en varias

regiones del planeta. Sin embargo, países como Canadá, E.U.A., Japón, el norte y centro de Europa, Austria y Nueva Zelandia han logrado erradicar esta enfermedad (22).

2.1.2. Agente etiológico

En el ganado bovino, los bisontes y los búfalos, la causa principal de la brucelosis es *Brucella abortus*, un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo. Este microorganismo es un patógeno intracelular facultativo (24).

El agente de la brucelosis bovina es *Brucella abortus* que está compuesto por nueve biotipos según las conclusiones del subcomité de taxonomía brucellar FAO/OMS (1967). Son microorganismos relativamente resistentes, aunque no forman esporas, efectivamente, las *Brucellas* permanecen vivas hasta 100 días en suelos húmedos, 75 días en heces húmedas de vaca, hasta 14 días en aguas estancadas con temperatura alrededor de 4°C, hasta 120 días en la mantequilla y membranas fetales secar y troceadas, 5 días en el purín. El tratamiento correcto del estiércol y la acidificación de la leche provoca la destrucción de las *Brucellas* (2).

Brúcela abortus habitualmente patógeno para el ganado, causando abortos, puede infectar ovejas, cabras, camellos, yaks, búfalos, caballos, perros y el hombre (13).

2.1.3. Taxonomía

Dominio: *Bacteria*.

Filo: *Proteobacteria*.

Clase: *Proteobacteria alfa*.

Orden: *Rhizobiales*

Familia: *Brucellaceae*

Género: *Brucella*

Especies: *B. abortus* (25).

2.1.4. Morfología

La morfología colonial de *Brucella* oscila entre lisa y no lisa. Las colonias lisas tienen una superficie húmeda y brillante, son translúcidas con un tono ligeramente azulado y son circulares con bordes lisos. Son cremosas y de consistencia blanda. Las colonias no lisas son mucosas tienen un aspecto y una consistencia de moco espeso. Tiene el mismo tamaño que

las colonias lisas, pero son más aplanadas y su superficie más que brillante es mate. Son viscosas y se adhieren a la superficie de los medios de cultivos (4).

B. abortus es un bacilo pequeño, cocobacilo gramnegativo y que no forma esporas; son tan cortos, que frecuentemente se le confunde con cocos. A menudo se le encuentra formando masas en los exudados, pero con más frecuencia se presenta aislado (3). Mide alrededor de 0.5 a 0.7 μm por 0.6 a 1.5 μm . Al igual que *B. melitensis*; *B. suis* son cocoides (26).

Brucella abortus crece a temperatura de 37°C en 72 a 96 horas, *B. abortus* requiere de 5 – 10% de CO₂ para su aislamiento primario. Requieren de sustratos nutritivos complejos (vitaminas, aminoácidos, glucosa) *B. abortus* produce H₂S al cuarto o quinto día de incubación y crece en presencia de fucsina básica pero no de tionina. Sus colonias son de fase S (lisas, pequeñas, brillantes, azulados y translúcidas) no hemolíticas, en medios de cultivos líquidos enturbian débil y uniformemente el medio (26). Hidroliza la urea, las cepas lisas pueden tener antígenos de superficie A, M o A y M reactivos en ensayos con antisueros monoespecíficos dependiendo del biotipo. (13).

2.1.5. Características bioquímicas del género *Brucella*.

- Catalasa positiva
- Hidroliza la urea.
- Oxidasa positiva.
- Reduce nitratos a nitritos (no *B. Ovis*)
- Producen hidrogeno sulfurado.
- Indol negativo.
- No hidrolizan la gelatina ni lisan la sangre.
- Reacción negativa al rojo de metilo.
- Temperatura óptima para el crecimiento es de 37°C.
- pH óptimo de crecimiento entre 6.0 a 7.0 (27).

2.1.6. Estructura antigénica

La estructura de género *Brucella* posee una envoltura celular característica formada por la membrana externa, la membrana interna y un espacio peri plasmático intermedio (28).

La membrana externa es una capa de lipopolisacárido proteico de aproximadamente 9nm de grosor rica en fosfatidilcolina. Compuesta un lípido A, un núcleo y una cadena O. La membrana externa es relativamente permeable a agentes hidrofóbicos como colorantes,

detergentes y sales biliares, también resiste a los péptidos catiónicos bactericidas presentes en los lisosomas y fluidos corporales (lisozimas, lactoferrina, defensinas, etc) (14).

En el periplasma hay proteínas y un gel glucopeptídico denominado peptidoglicano (PG) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. Las proteínas de la matriz y las porinas penetran la capa de peptidoglicano a intervalos irregulares. El espacio periplasmático de baja densidad separa la capa de PG de la membrana celular. El citoplasma es rico en ADN, ARN y proteínas citosólicas (28).

2.1.6.1. Lipopolisacárido.

El principal componente de superficie de *Brucella sp.* Es el lipopolisacárido (LPS) que se conoce con el nombre de endotoxina y es altamente resistente a la degradación por los macrófagos. En el LPS se distinguen tres regiones: el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana; un oligosacárido intermedio llamado núcleo y el polisacárido O (PSO), también conocido como cadena O, que se ancla al complejo en la membrana celular externa. Las cepas lisas (S) contienen el complejo completo y las cepas rugosas (R) carecen de cadena colateral O (29).

El LPS de *Brucella* desempeña un importante papel en la protección contra los péptidos catiónicos bactericidas (defensinas NP-2, lactoferrina, cecropinas, lisozimas, péptidos derivados de la batenecina, el antibiótico tipo defensina polimixina B y los extractos lisosomales de los leucocitos polimorfonucleares).

El lípido A es un glucolípido que contiene glucosalina y diaminoglucosa. En sus grupos amino e hidroxilos presenta sustituciones por ácidos grasos de variedad longitud de cadena. El núcleo contiene glucosa, manosa y ácido 3, deoxi-D-mano-2 octulosónico (KDO) y no contiene ni heptosas ni fosfatos. La quinovosamina está presente en el núcleo del LPS-L(liso) pero no en el del LPS-R(rugoso) (30).

La fuerza del LPS para unirse al receptor CD14 de los fagocitos mononucleares se debe al lípido A; esta interacción estimula a estas células la producción de TNF- α , interleucina -1(IL-1), interleucina -6(IL-6) e interleucina-8 (IL-8), los cuales son mediadores de la mayoría de los síntomas de choque séptico. Las moléculas de manosa que presenta el extremo terminal del LPS de *Brucella* (cepa lisa) favorecen la adherencia a los fagocitos manonucleares del hospedador, ya que estos tienen receptores de manosa (28).

El polisacárido O es la porción más distal del LPS, la parte más expuesta de la bacteria y blanco de los anticuerpos, las especies lisas de *Brucella* inhiben la apoptosis celular a través de la acción de este polisacárido a través de un mecanismo independiente del TNF- α . Debido a esta inhibición de la apoptosis, *Brucella* puede escapar de la vigilancia inmune del hospedador y evitar la activación de la respuesta inmune por factores liberados por las células muertas y evitar la inducción de las células presentadoras de antígeno (14).

El POS contiene varios epítomos: el epítomo A predomina en las cepas de *B. abortus* y consiste de un homopolímero lineal compuestos por aproximadamente 100 residuos de N-formil perosamina que es el componente inmunodominante de las cepas lisas de *B. abortus*. La presencia de perosamida explica las reacciones cruzadas con otras bacterias gramnegativas. Un epítomo común, el epítomo C, está presente en todas las especies de *Brucella* y explica las reacciones cruzadas serológicas entre ellas.

El género *Brucella* contiene otro polisacárido denominado hapteno superficial o hapteno nativo (HN), que es químicamente idéntico a la cadena O, pero no está unido al núcleo (14).

2.1.6.2. Proteína de la membrana externa (OMPS)

En el género *Brucella* han sido identificadas varias proteínas de membrana externa y han sido clasificados en tres grupos de acuerdo a su masa molecular aparente: el Grupo I se relaciona con la biosíntesis de la propia envoltura celular y tiene un peso molecular entre 88 a 94 kDa; el Grupo II es equivalente a las porinas de otras bacterias gramnegativas, como Omp 2, OmpC y OmpF y tiene un peso molecular entre 35 y 40 kDa; y las proteínas del Grupo III con un peso molecular entre 25 y 31 kDa interaccionan fuertemente con el LPS (31).

Estos tres grupos de proteínas de membrana externa son reconocidos por el sistema inmune durante el curso de la infección y son de muchos interés debido a su especificidad, porque no muestra reacción cruzada con otros gérmenes y por su potencial utilización en el campo de las vacunas y diagnóstico serológico (28).

Las OMP mayores o principales, se encuentran expuestas en la superficie de la membrana externa, sin embargo, estarían menos accesibles en las cepas lisas que en las rugosas, debido al impedimento estérico que causan las largas y abundantes cadenas O del LPS en las cepas lisas (15).

2.1.6.3. Proteínas citoplasmáticas

Las que más se caracterizan son las de estrés térmico, que se expresan a niveles elevados en el ambiente intracelular. Entre estas se encuentran GroEL (60kDa), GroES (10kDa), DnaK (70kDa) y HtrA (60kDa). También se han hallado las proteínas YajC y UvrA, así como una bacterioferritina (BFR), la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), las proteínas ribosomales L7/L12 y cp24 y una lumazina sintetasa. La proteína ribosomal L7/L12 parece desempeñar un papel en la estimulación de la inmunidad celular tipo Th 1 y es importante en la respuesta de hipersensibilidad retardada en la prueba de brucelina (28).

2.1.6.4. Proteínas periplasmáticas:

Las proteínas periplasmáticas que han sido identificadas se encuentran la superóxido dismutasa Cu-Zn (SOD) que inactivan los intermediarios oxígeno reactivo, la BP26 o CP28, la P39 y la enzima catalasa. La SOD Cu-Zn forma parte del sistema de defensa antioxidante de *Brucella*, el cual protege a la bacteria de los efectos tóxicos de los intermediarios reactivos del oxígeno, ya que transforma los radicales superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y oxígeno gaseoso (O_2), contribuyendo a la supervivencia intracelular de la *Brucella*. La enzima catalasa ayuda a la proteína SOD Cu-Zn a detoxificar el ambiente bacteriano, actuando sobre el peróxido de hidrógeno generado al interior del macrófago después de la fagocitosis de la bacteria, transformándolo en agua y oxígeno. La expresión de estas enzimas favorece la permanencia de *Brucella* en el interior del fagocito (28).

2.1.6. Patogenicidad

Una vez ingresada la bacteria al hospedador por cualquier vía ya sea nasal, ocular, oral, cutánea o genital va a generar una respuesta inmune primaria mediada por las células mononucleares fagocíticas, esta atracción se da por la membrana externa de la célula por el lipopolisacárido; que en su porción más distal presenta cadena O que es el blanco de los anticuerpos. El macrófago fagocita a esta bacteria y el LPS (endotoxina) inhibe la apoptosis celular a través de la cadena O por un mecanismo independiente del TNF- α . Una vez que se ha inhibido la apoptosis celular entra a en acción las proteínas periplasmáticas el superóxido dismutasa Cu-Zn (SOD) que inactivan a los intermediarios de oxígeno reactivo, la BP26 o CP28, la P39 y la enzima catalasa, transformando a los radicales superóxido- (O_2^-) en peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y oxígeno gaseoso (O_2) contribuyendo a la supervivencia

intracelular de la *Brucella*. La enzima catalasa ayuda a la proteína SOD Cu-Zn a detoxificar el ambiente bacteriano, actuando sobre el peróxido de hidrogeno generado en el interior del macrófago después de la fagocitosis de la bacteria, para transformarlo en agua y oxígeno. De esta manera se lleva a cabo la supervivencia de la bacteria dentro del macrófago y es transportada a los ganglios regionales cercanos para luego ser diseminado a todo el organismo del animal (28).

Permitiendo así la colonización del bazo, útero placenta, glándula mamaria, testículos, epidídimo y glándulas sexuales accesorias en los machos (14).

En un animal infectado la IgM es la primera en aparecer y alcanzar altos niveles para luego decaer en el tiempo. Por su lado la IgG1 aparece un poco más tarde pero su nivel es alto y se prolonga más en el tiempo esto es por la presencia de proteínas de la bacteria (32).

Los abortos tienen lugar a mitad del periodo la gestación y después, incluso cuando la infección tiene lugar antes de la fecundación o poco después de ella (4). Esto es debido por la presencia del eritritol, un alcohol polihídrico presente en la placenta y actúa como un factor de crecimiento de las *Brucellas*. El eritrol está presente en concentraciones elevadas en la placenta a mitad de la gestación y glándulas mamarias (33).

Lo que causa que a la mitad de la gestación induce al microorganismo a multiplicarse abundantemente en los cotiledones y en membranas placentarias. Los abortos en si pueden ser debidos a la endotoxina de las *Brucellas* (4).

2.1.7. Transmisión

Las hembras que abortan, los productos de los abortos y el exudado vaginal que eliminan tras haber abortado, son las principales fuentes de infección y explican la amplia diseminación de los microorganismos (4).

La enfermedad se transmite por la ingestión, penetración por la conjuntiva, a través de la piel o por contaminación de la ubre durante el ordeño. El pastoreo en áreas contaminadas, el consumo de agua contaminada con secreciones, membranas fetales infectadas y el contacto con fetos abortados o neonatos, se considera las formas más frecuentes de propagación (34).

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 primer parto, momento en el cual comienza a desechar el microorganismo (34).

La transmisión horizontal suele presentarse por la contaminación directa y la infección por moscas, perros, ratas, garrapatas, calzado, ropa y otros objetos infectados; esto no se considera de importancia, comparado con el número de microorganismos desechados en abortos (34).

La vía de invasión más frecuente es el tracto gastrointestinal, por ingestión de pastos, forrajes y agua contaminada por *Brucellas*. Además, las vacas tienen la costumbre de lamer membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, que contienen todos ellos gran número de *Brucellas* y constituyen una fuente de infección muy importante. El hábito de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección. No hay dudas de que la vía intrauterina que se emplea en la inseminación artificial es muy importante en la transmisión de la infección. El uso de toros infectados para inseminación artificial constituye un peligro importante, ya que así puede difundirse la infección en muchos rebaños (35). La inseminación artificial con toros de dudosa procedencia, puede darse la infección cuando se deposita el semen contaminado en el útero, más no el cuello del útero (24). Las vacas inseminadas artificialmente con semen infectado, los calores pueden volver repetidas veces, las hembras no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan con anterioridad al servicio muchas veces no abortan. Después que una vaca infectada aborta o pare normalmente, el agente no permanece mucho tiempo en el útero. La infección se vuelve crónica y las *Brucellas* se acantonan en los ganglios y glándulas mamarias de la vaca (35). Las vacas constituyen la categoría más susceptible y más aún cuando están preñadas; en ellas la infección es común y el aborto, frecuente. El toro es también susceptible, pero es más resistente a la infección que la hembra. La mayoría de las vacas se infectan y se mantienen con títulos de aglutinantes positivos por muchos años o por toda la vida y, si bien después de uno o dos abortos paren normalmente y vuelven a su producción normal de leche, muchas son portadoras y eliminadoras de *Brucellas* (35).

El manejo de los animales con relación al movimiento continuo de los que se encuentran en seca y animales jóvenes son llevados a las alturas, movilizándose a diferentes zonas en varios distritos y si uno de ellos presentaba la enfermedad, esta podría diseminar la enfermedad en varios distritos (14). El intercambio y tránsito de animales de estado sanitario desconocido contribuyendo a mantener la infección en forma activa. La propagación de la enfermedad de un rebaño a otro y de una región a otra casi siempre se debe al traslado de un animal desde

un rebaño infectado a otro no infectado. El traslado incontrolado de bovinos desde rebaños zonas infectadas hasta rebaños o zonas libres de brucelosis es una de las principales causas de fracaso de los programas de erradicación de brucelosis (28).

2.1.8. Síntomas

En los bovinos, porcinos, ovinos y caprinos son causa de aborto debido a que las placentas y membranas fetales de estos animales contienen eritrol, excelente factor de crecimiento para estas bacterias situación que no ocurre en el ser humano debido a la carencia de este (36).

Los síntomas son aborto, retención de placenta, terneros nacidos débiles o muertos, infertilidad, esterilidad, lesiones articulares, orquitis y epididimitis (37).

El periodo de incubación es variable. Se cifra en 14 a 180 días. Que de 191 a 251 días hasta el aborto como expresión visible de que se ha producido la infección. Tras el aborto se produce a menudo una retención de las membranas fetales; siempre hay flujo, acumulándose en el útero una secreción frecuentemente gris sucia o roja parduzca y, a veces, maloliente que se expulsa al exterior cada cierto tiempo al presionar (2).

En los sementales se pueden presentar la inflamación de las articulaciones aisladas, siendo las tarsianas y las carpianas las más afectadas, poliartritis, tenosinovitis, bursitis y abscesos subcutáneos. La infección de las mamas no indican manifestaciones clínicas pronunciadas (2).

2.1.9. Diagnostico

2.1.9.1. Diagnóstico Diferencial

Hay que tener en cuenta que abortos repetidos pueden producirse por diversas causas, enfermedades infecciosas y no infecciosas. Como tricomoniasis, vibriosis, *Corynebacterium pyogenes*, intoxicaciones alimentarias, trastornos de aclimatación o traumatismos. La retención placentaria está relacionada con la debilidad del animal (2).

Asegurar la edad del feto mediante exploración y a través de los registros de reproducción. Tomar muestras de sangre para pruebas serológicas de brucelosis y leptospirosis. Examinar los líquidos uterinos y los contenidos de los abomasos fetales para identificar tricomonas y cultivos para *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus*, tricomonas, listerias y hongos. Análisis de orina para detectar leptospirosis (38).

2.1.9.2. Diagnóstico de Laboratorio

Los líquidos a recoger en los animales vivos son: sangre, leche, semen y exudados vaginales de las hembras que han abortado recientemente. En los animales muertos los órganos más apropiados son ganglios linfáticos supramamarios, retrofaringeos, iliacos internos, lumbares y mesentéricos. También deben de ser sembrados los líquidos articulares de las articulaciones que presentan aumento de tamaño. Los productos de aborto son las fuentes más ricas de microorganismo, los aislamientos se pueden llevar a partir de la placenta, en las membranas y líquidos fetales y del contenido estomacal del feto. Todos los tejidos y líquidos deben ser introducidos en bolsas de plástico impermeables o en recipientes de plásticos o metálicos que deben manipularse con gran cuidado (4).

Los cultivos para sembrar son medios enriquecidos como agar suero dextrosa, agar tripticasa – soya, agar triptosa – suero, agar suero papainfusión, agar Brucella, agar sangre de ovino, medio Castañeda (26).

2.1.9.3. Pruebas Serológicas

A falta de cultivos positivos de *Brucellas abortus*, se suele realizar un diagnóstico provisional basado en la presencia de anticuerpos en suero sanguíneo, en leche, suero lácteo, moco vaginal o plasma seminal. Cualquiera de las pruebas serológicas o combinación de pruebas que existen miden la respuesta de un solo animal en un momento dado y no describe el estado del rebaño (38).

La concentración de anticuerpo IgM se eleva durante la primera semana de enfermedad aguda, tiene un máximo a los tres meses y pueden persistir durante la enfermedad crónica. La concentración de anticuerpos IgG se eleva alrededor de tres semanas después del comienzo de la enfermedad aguda, llega a un máximo en seis a ocho semanas y permanece alta durante la enfermedad crónica. Los valores de IgA van en paralelo a la IgG (39).

2.1.9. Tratamientos

El tratamiento es ineficaz debido al secuestro intracelular de las bacterias en los ganglios linfáticos, la glándula mamaria y los órganos reproductores. Las especies *Brucella* son intracelulares facultativas que pueden sobrevivir y multiplicarse en el interior de las células del sistema macrofágico. Los fallos en el tratamiento no se deben al desarrollo de una

resistencia a antibióticos, sino más bien a la incapacidad del medicamento de penetrar la barrera de la membrana celular (38).

Para los animales enfermos de brucelosis no existe tratamiento alguno debido a que es costoso (4).

2.1.10. Prevención y control

Los ganaderos o administradores de explotaciones de ganado vacuno deben: asegurarse de establecer un plan de limpieza y desinfección de instalaciones, equipos y utensilios, considerando el método y los agentes de limpieza y desinfección. Se debe mantener registros escritos de las actividades realizadas, ya sea en un cuaderno, libreta u otro medio. El personal que tiene contacto directo o indirecto con los animales o insumos debe mantener un buen estado de salud y someterse periódicamente a exámenes médicos. El personal que ingrese en contacto con los animales debe portar indumentaria adecuada (mameluco y botas) y limpias, lavarse las manos y desinfectarse antes y después de manipular los animales (40).

Las medidas de prevención incluyen una estricta higiene en los establos, cuarentena de los animales recientemente adquiridos y un estricto programa de vacunación. Igualmente hay que tener una cuidadosa selección de animales de remplazo, estos deben ser adquiridos de hatos libres de *Brucella*. Los factores tales como los métodos de manejo animal, los patrones de comercio, la prevalencia de los signos clínicos, el tipo de instalaciones y el grado de dedicación de los propietarios también afectarán el éxito del control. Frecuentemente los propietarios están pobremente informados sobre la transmisión de la enfermedad y las recomendaciones para prevenirla (28).

La mayoría de los países con brucelosis ha desarrollado programas diseñados para prevenir y finalmente erradicar la infección del ganado bovino con el objeto de reducir las pérdidas económicas y prevenir a los ciudadanos de la enfermedad. Estos programas suelen estar formados por varias partes y para asegurar su eficacia, cada una de las partes debe ser científicamente sólida y ser aceptada por todos los implicados (17).

Comprobación y reducción del reservorio de la infección: Se debe realizar pruebas serológicas a todos los animales reproductores del rebaño, y los que muestran resultados positivos se separan y se envían al matadero. Es fundamental la identificación y eliminación de vacas infectadas antes del parto (17).

Cuarentena: periodo durante el cual se restringen los movimientos del ganado, y se realizan pruebas a todos los animales. Esto previene la infección entre rebaños a través de animales infectados, especialmente a través de animales negativos en las pruebas, y que se encuentran incubando la enfermedad. La duración de la cuarentena debe ser lo suficientemente larga para que todos los animales dispongan de tiempo suficiente para desarrollar la brucelosis y asegurar que el resto del ganado no será fuente de transmisión entre rebaños. Este periodo varía de 120 días a 1 año, o hasta que todos los animales reproductores hayan completado una gestación sin signos de infección (17).

2.1.11.1. Vacuna con la cepa 19 de *Brucella abortus*

La vacuna más ampliamente utilizada para prevenir la brucelosis en el ganado bovino es la vacuna S19 de *B. abortus*, que continúa siendo la vacuna de referencia con la que se compara el resto de las vacunas. Se utiliza como una vacuna viva que por lo general se administra a terneros de entre 3 y 6 meses de edad en forma de una dosis única subcutánea de $5 - 8 \times 10^{10}$ microorganismos viables. Se puede administrar al ganado adulto una dosis reducida de 3×10^8 a 3×10^9 microorganismos, pero algunos animales generan títulos duraderos de anticuerpos y pueden abortar y excretar la cepa vacunal por la leche. Como alternativa, se puede administrar a ganado de cualquier edad en una o dos dosis de 5×10^9 microorganismos viables por vía conjuntival; esto produce protección sin una respuesta duradera de anticuerpos y reduce los riesgos de aborto y de la excreción en la leche cuando se vacuna ganado bovino adulto (23).

2.1.11.2. Vacuna con la cepa RB51 de *Brucella abortus*

Desde 1996 la cepa RB51 de *B. abortus* es la vacuna oficial en muchos países para la prevención de la brucelosis en el ganado bovino. Cada país utiliza métodos ligeramente diferentes de administrar la vacuna. En EE.UU. los terneros se vacunan por vía subcutánea entre los 4 y 12 meses con $1 - 3,4 \times 10^{10}$ microorganismos viables de la cepa RB51. La vacunación del ganado de más de 12 meses solo se lleva a cabo bajo autorización de organizaciones estatales o federales de Sanidad Animal y la dosis recomendada es de $1 - 3 \times 10^9$ microorganismos viables de la cepa RB51. En otros países se recomienda la vacunación de terneros (4–12 meses) con dosis de $1 - 3,4 \times 10^{10}$, y la revacunación desde los 12 meses en

adelante con una dosis similar para inducir un efecto de recuerdo y aumentar la inmunidad (23).

2.1.11. Impacto socioeconómico

Son muy importantes las pérdidas en la producción animal debidas a esta enfermedad, principalmente por la reducción de la leche en vacas que abortan. Una secuela frecuente es la esterilidad temporal, que alarga el periodo entre lactancia. A demás de la pérdida de producción de leche, hay pérdida de terneros y se interfiere en el programa reproductor. Esto es muy importante en los rebaños de carne donde los terneros representan la única fuente de ingresos (38).

En Colombia, se estima que las pérdidas económicas asociadas a la Brucelosis bovina, varían de tres a diez millones de pesos por animal infectado al año, según el sistema de producción. De acuerdo con los cálculos efectuados por FEDEGÁN-FNG, el costo por cada día abierto en el País se estima en \$21.000, a lo cual se incrementan sobrecostos asociados a la confirmación diagnóstica de los animales con síndrome reproductivo, eliminación de reactores sin compensación gubernamental, incapacidad laboral y tratamiento médico del personal afectado, entre otros; mientras que en Ecuador genera pérdidas anuales de 5,5 millones de dólares americanos (USD) a causa de abortos, reducción de la producción de leche y la mortalidad (9).

En cuestión de pérdidas económicas para los ganaderos se pueden destacar dos de suma importancia: pérdidas directas, así como indirectas; entre las pérdidas directas se encuentran los abortos y retención de placentas, que en sistemas de producción muy grandes puede afectar hasta un 50% de la producción de terneros, retardando la multiplicación del hato y perdiendo, en cada caso 1/4 del valor por vaca; también está la disminución del celo de las vacas infectadas entre un 40 y 50%, por otra parte, también puede haber una disminución de la producción lechera, en las vacas infectadas, de hasta un 20% (9).

Mientras que las pérdidas indirectas son aquellos donde se generan pérdidas económicas por el mantenimiento improductivo de vacas que no producen terneros durante el lapso de un año. Otro de los factores que aparece es la esterilidad total. Se pierden machos y hembras de alto valor genético. Además, se resalta que las vacas infectadas producen menos leche, retrasan el desarrollo de sus terneras, mayor intervalo entre partos, ya que las vacas infectadas de brucelosis, producen un promedio de un ternero cada 20 meses, contra los 12 meses de intervalo promedio en animales sanos (9).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación se realizó en 11 caseríos del distrito de La Ramada provincia de Cutervo departamento de Cajamarca.

➤ Ubicado en:

- Latitud sur: 6° 15' 8.47"
- Latitud oeste: 78° 34' 33.65"
- País: PERÚ
- Departamento: Cajamarca
- Provincia: Cutervo
- Distrito: La Ramada.

Comunidades estudiadas: La Laguna, La Cubillina, Chacerillas, Ramada, Las Iglesias, Suro Chico, Corral Cucho, Cochagan, Tambillo, Los Puentes, Valle Grande (Anexo 1).

Aspectos físicos climatológicos:

- ✓ Extensión territorial: 30.27 Km²
- ✓ Altitud: 1100 m.s.n.m
- ✓ Temperatura media máxima anual: 24°C
- ✓ Temperatura media mínima anual: 15 °C
- ✓ Humedad relativa: 64% /año

3.2. Materiales

3.2.1. Materiales de oficina

- ✓ Material bibliográfico
- ✓ Laptop
- ✓ Impresora
- ✓ Lapiceros
- ✓ Plumón indeleble
- ✓ Registros

3.2.2. Materiales de campo

- ✓ Agujas número 22

- ✓ Tubo vacutainer de 6 ml
- ✓ Adaptador de aguja
- ✓ Algodón
- ✓ Alcohol
- ✓ Guantes quirúrgicos
- ✓ Ropa de campo
- ✓ Mochila
- ✓ Porta tubos
- ✓ Narisera
- ✓ Plumón indeleble
- ✓ Cuaderno de campo
- ✓ Fichas de registro
- ✓ Viales de 3ml
- ✓ Pipetas descartables

3.2.3. Materiales de laboratorio

- ✓ Estufa
- ✓ Micropipetas
- ✓ Puntas descartables para micropipetas
- ✓ Reactivo Rosa de Bengala
- ✓ Placa
- ✓ Palitos mondadientes
- ✓ Rotador
- ✓ Marcador

3.2.4. Material biológico

Se utilizó un total de 187 muestras de suero sanguíneo de ganado vacuno a partir de 6 meses de edad en adelante, hembras y machos de diferentes razas, crianza extensiva con pastos naturales, escasa tecnificación. La sangre fue extraída de la base de la cola por punción venosa, realizando la sujeción del animal y desinfectando la zona a punzar con alcohol y algodón. Las hembras que tenían antecedentes de abortos fueron tenidas en cuenta en el muestreo.

3.3. Metodología

3.3.1. Obtención de las muestras

La sangre fue extraída por punción de la vena coxígea (base de la cola), teniendo en cuenta los siguientes pasos:

- ✓ Sujeción del animal y desinfección de la zona a punzar con alcohol y algodón (Fig.1)
- ✓ Ubicación la vena coxígea para la punción.
- ✓ Inserción de la aguja y el tubo al vacío.
- ✓ Obtenidos los 6ml de sangre se retiró el tubo y la aguja para no causar lesiones en la vena o arteria coxígea.
- ✓ Se rotuló el tubo con datos del animal, luego se colocó el tubo en el suelo formando un ángulo de 45° para obtener el coágulo y el suero sanguíneo.
- ✓ El suero sanguíneo fue extraído de los tubos con pipetas descartables a viales de 3 ml.
- ✓ Los viales al igual que los tubos fueron rotulados con las muestras respectivas de cada animal y se colocaron a la nevera a -4°C para transportarlos al laboratorio del Hospital de Jaén.

3.3.2. Detección de Brucelosis Bovina.

Se empleó el reactivo Rosa de Bengala (RB), los resultados se analizaron siguiendo las instrucciones del inserto del reactivo.

Fundamento de (RB):

La prueba de Rosa de Bengala es una técnica de aglutinación en lámina portaobjeto para la detección cualitativa de anticuerpos anti-*Brucella* en suero humano o animal. La suspensión bacteriana y coloreada, es aglutinada por anticuerpos IgG o IgM presentes en el suero del animal, por lo tanto reconoce IgG, formándose la reacción antígeno – anticuerpo (15).

Esta prueba es llamada antígena tamponado por su capacidad de mantener estable un pH determinado; en consecuencia, es un procedimiento cualitativo más no cuantitativo de aglutinación rápida, de aglutinación macroscópicas que se realiza en una sola dilución y que detecta principalmente inmunoglobulina de tipo G1, el colorante empleado es Rosa de Bengala a un pH 3.65 con un volumen celular del orden de 8%, tiene una estabilidad de

conservación de 4°C. Al principio esta prueba fue para animales de carne y porcinos. Posteriormente se modificó para hacerla extensiva a ganado Bovino; es una prueba que se usa como Tamiz o descarte igualmente como complementaria o alternativa de otras pruebas básicas (21).

La RBT es muy sensible. Sin embargo, como toda prueba serológica, a veces puede originar una reacción positiva debido a vacunación con S19 o a reacciones serológicas positivas falsas (FPSR). Por tanto, las reacciones positivas deben confirmarse con estrategias confirmativas y/o complementarias. En ocasiones muy infrecuentes se producen falsos negativos, sobre todo debido a los fenómenos de prozona, y en ocasiones se pueden detectar diluyendo la muestra de suero o volviendo a analizarla después de 4–6 semanas (41).

Procedimientos:

1. Se colocó a temperatura ambiente las muestras (suero sanguíneo) y el reactivo (20°C \pm 4°C).
2. Se agitó con suavidad el reactivo y con una micropipeta se tomó 30 μ m (1 gota) del reactivo y en otra micropipeta se tomó 30 μ m (1 gota) de suero sanguíneo.
3. Se colocó la gota del reactivo cerca a la gota de la muestra en la placa de aglutinación.
4. Inmediatamente después se mezcló cuidadosamente el suero y antígeno (usando una varilla de plástico para cada prueba) hasta producir una zona circular u oval de aproximadamente 2 cm de diámetro.
5. La mezcla se giró cuidadosamente en un rotador circular por 4 minutos.
6. Se comprobó la aglutinación, a los 4 minutos. Con la ayuda de luz eléctrica, la aparición de cualquier signo de aglutinación se consideró positiva (Fig. 2)



Fig. 1: Obtención de la muestra sanguínea



Fig. 2: Proceso de las muestras.

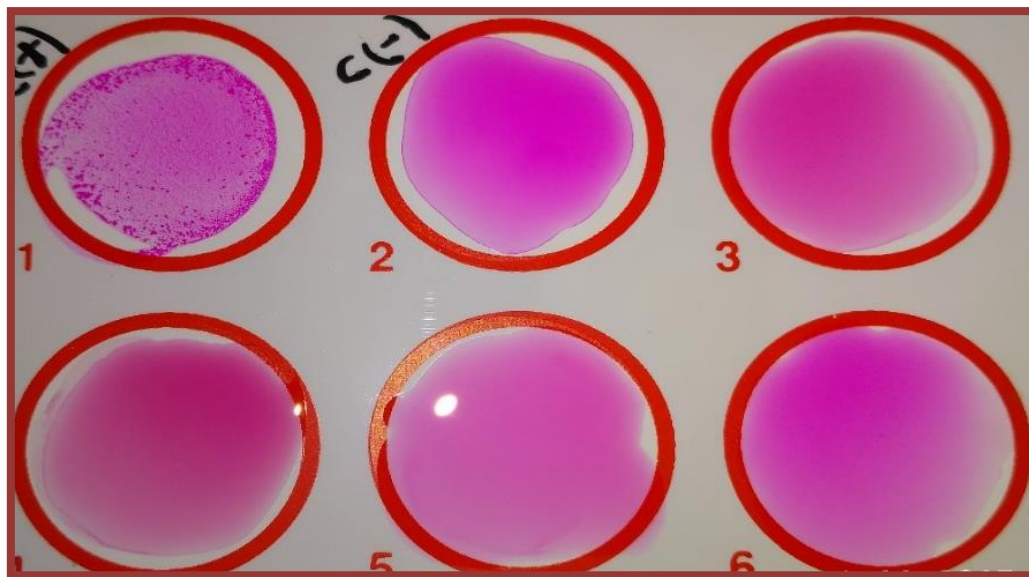


Fig. 3: Resultado de la reacción.

Lectura del resultado del RB

La lectura debe ser interpretada desde el resultado negativo en el que el suero sanguíneo y el reactivo siguen siendo acuosos y ligeros a la rotación y el resultado positivo se considera desde una ligera hasta la más marcada aglutinación. También se considera que si la reacción del suero y el reactivo pasado los cuatro minutos de reacción tiene un movimiento rotacional lento con una apariencia a una gelatina es considerado positivo (Fig. 3)

3.3.3. Recolección de datos

Se hizo en fichas de registro (Anexo 6) teniendo en cuenta los datos del propietario y del animal como edad, sexo, raza, lugar de procedencia, e interpretación de la prueba Rosa de Bengala.

3.3.4. Presentación de los datos

Después de haber recolectado la información, se procedió a tabular y clasificar los datos para el análisis e interpretación respectiva en tablas y gráficos.

3.3.5. Análisis estadísticos de los datos

3.3.5.1. Prevalencia:

Para detectar la prevalencia de Brucelosis Bovina se utilizó la siguiente fórmula (42)

$$P = \frac{Nc}{Np} \times 100$$

Donde:

P = Prevalencia.

Nc= número de casos en un momento dado

Np= Tamaño de la muestra en un momento dado

3.3.5.2. Intervalo de confianza

El resultado obtenido estará expresado por el intervalo de confianza del 95% expresado en la siguiente formula.

$$p \pm Z\alpha/2 \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Donde:

P= prevalencia.

Z= intervalo de confianza 95% = 1.96

n= tamaño de muestra.

3.3.5.3. Análisis de asociación.

Para relacionar la prevalencia por raza, edad, sexo y lugar se utilizó la prueba del Chi-Cuadrado, con un nivel de significancia de 0.05.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PREVALENCIA GENERAL DE BRUCELLOSIS BOVINA MEDIANTE EL METODO ROSA DE BENGALA EN EL DISTRITO DE LA RAMADA PROVINCIA DE CUTERVO 2017.

Se realizó la prueba Rosa de Bengala a 187 muestras de suero sanguíneo de ganado bovino, correspondiente a 11 comunidades del distrito la Ramada de las cuales 19 (10.16%) son positivos a Brucelosis Bovina y 168 (89.84%) son negativos a esta prueba, afirmándose con un 95% de confiabilidad que la prevalencia de Brucelosis Bovina se encuentra entre 5.83% y 14.49% con un 5% de posibilidad que esté fuera de este intervalo aleatorio. Ver cuadro 1 y grafico 1.

Cuadro 1: Prevalencia general de Brucelosis Bovina en el distrito La Ramada –Cutervo 2017.

Método	Vacunos Evaluados	Casos Negativos	Casos Positivos	Prevalencia %	Intervalo de Confianza
CMT	187	168	19	10.16 ± 4.33	5.83 - 14.49

FUENTE: EL INVESTIGADOR.

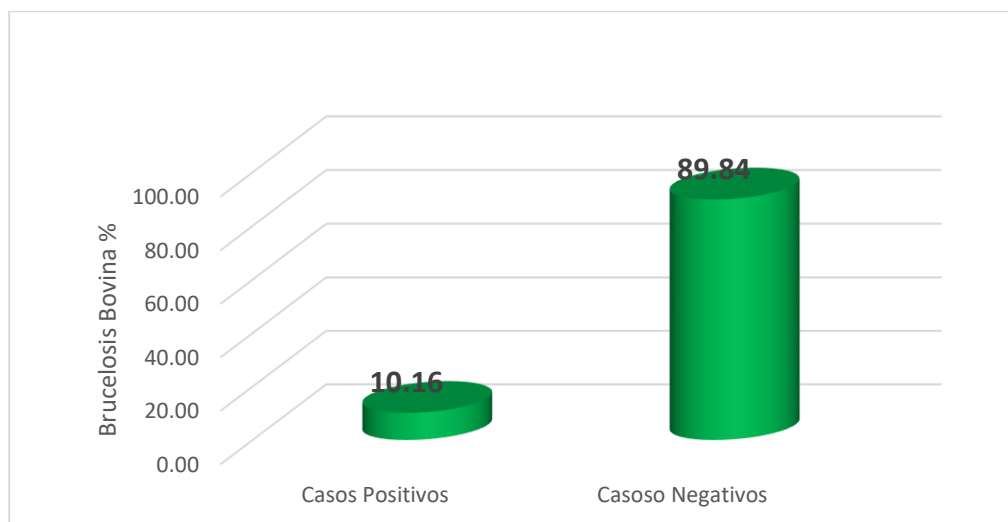


Gráfico 1: Prevalencia general de Brucelosis Bovina en el distrito La Ramada- Cutervo 2017.

FUENTE: EL INVESTIGADOR.

La prevalencia obtenida en la presente investigación es superior a la obtenida por Pintado, quien reportó una prevalencia de 3.85% de 260 animales muestreados en el distrito de San Andrés provincia de Cutervo (Cajamarca Perú) (19). De la misma manera con los resultados obtenidos por SENASA, en su Programa de Control y Erradicación de Tuberculosis y Brucelosis Bovina en la provincia de Cutervo, muestreo a 120 animales de 20 predios ganaderos, resultando 4.2% de prevalencia en la provincia de Cutervo (20). Esta podría ser atribuida a que cronológicamente la tasa de infección por Brucelosis Bovina tiende a incrementarse, esto es debido a la movilización, comercialización de vacunos y subestimación de esta enfermedad por los ganaderos, profesionales de campo y autoridades pertinentes en el caso. Así mismo menciona Calle, la propagación de la enfermedad de un rebaño a otro y de una región a otra casi siempre se debe al traslado de un animal desde un rebaño infectado a otro no infectado. Frecuentemente, los propietarios de los animales están pobremente informados sobre la transmisión de la enfermedad y las recomendaciones para prevenirla (28).

Así mismo es necesario señalar que existe falta de capacitación a los técnicos de campo en buenas prácticas ganaderas, los cuales desconocen la forma correcta de manejo de ganado bovino y las medidas de bioseguridad a tener presente cuando entran en contacto con los vacunos (40).

De la misma manera si comparamos los resultados de prevalencia obtenida en este trabajo que es de $10.16\% \pm 4.33\%$ positivos a brucelosis bovina, encontramos que son superiores a la prevalencia de 0% en el distrito de San José de Lourdes, San Ignacio – Cajamarca (18). 0.13% en las cuencas de Mashcón y Chonta (17), 1% en Canta Lima (14), 0% provincia de Puerto Inca Huánuco (15), 7.4% en la Provincia de Chinchipe (13).

Sin embargo si comparamos los resultados del presente estudio con la prevalencia de brucelosis bovina reportada por otros autores de otras regiones, encontramos que son inferiores a las cifras más de 17% encontradas en las regiones de Cajamarca, Ica, La Libertad, Lima, Loreto, Pasco, Puno, Tacna y Ucayali divulgado por SENASA en su boletín estadístico 2013 (16), y de 11% de prevalencia con la prueba Rosa de Bengala en el Municipio Pijiño del Carmen Colombia (12)

De igual manera la prevalencia del presente estudio están dentro de la prevalencia a nivel de Sudamérica que oscila entre 0.1% y 20.3% (9), atribuidas a la falta de información a los ganaderos acerca de esta enfermedad y los riesgos de salud para animales como para

humanos, concuerda con lo manifestado por Huguen quien indica que el ganadero de crianza extensiva, tiene un gran desconocimiento de la brucelosis bovina y de otras enfermedades de gran importancia zoonótica como es el caso de tuberculosis bovina (14).

4.2. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA MEDIANTE EL MÉTODO ROSA DE BENGALA SEGÚN LUGAR DE PROCEDENCIA EN EL DISTRITO LA RAMADA-CUTERVO - 2017.

El cuadro 2 muestra la prevalencia de Brucelosis Bovina, según lugar de procedencia en el distrito de la Ramada, observando de mayor a menor número de animales y el % de prevalencia a las siguientes comunidades: Corralcucho 6 (24%), Vallegrande 4(14.29%), Las Iglesias 4(19.05%), Los Puentes 2 (14.29%), Tambillo 2 (8.33%) Suro Chico se detectó 1 (2.86%), La Laguna, Cubillinas, Chacrerillas, Ramada, Cochagan 0(%) respectivamente (ver Gráfico 2). Al efectuar la prueba del Chi Cuadrado, con una significancia de 5%, indica que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente del lugar de procedencia ($P>0.05$). (Anexo 2)

Cuadro 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito la Ramada – Cutervo- 2017.

Comunidad	Total de vacunos muestreados	Casos negativos de brucelosis bovina	Casos positivos de brucelosis bovina	Prevalencia %	Intervalo de confianza
La Laguna	5	5	0	0.00	0
Cubillinas	13	13	0	0.00	0
Chacrerillas	6	6	0	0.00	0
Ramada	7	7	0	0.00	0
Las Iglesias	21	17	4	19.05	± 0.1679
Suro Chico	35	34	1	2.86	± 0.0552
Corralcucho	25	19	6	24.00	± 0.1674
Cochagan	9	9	0	0.00	0
Tambillo	24	22	2	8.33	± 0.1105
Los Puentes	14	12	2	14.29	± 0.1833
Valle Grande	28	24	4	14.29	± 0.1296
TOTAL	187		19	10.16	± 0.0433
$X^2C= 13.029$ NS $X^2T(10, 0.05)=18.3070$					

FUENTE: EL INVESTIGADOR.

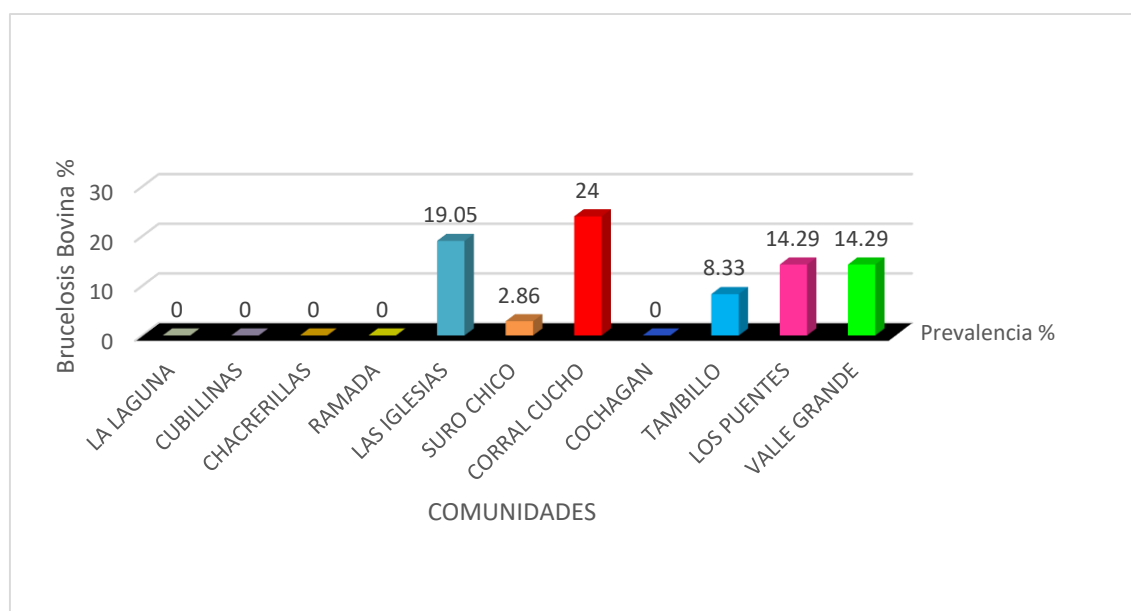


Gráfico 2: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito de Ramada-Cutervo- 2017.

FUENTE: EL INVESTIGADOR

La prevalencia de brucelosis bovina, fue más alta en las comunidades de Corral Cucho con un 24% correspondiente a 6 bovinos de 25 bovinos muestreados, esto se debería al intercambio y tránsito de animales de estado sanitario desconocido contribuyendo a mantener la infección en forma activa (28). El movimiento y la comercialización de animales de predio a predio sería una forma de diseminar la enfermedad, ya que cuando se termina la pastura en el predio los mueven a otro predio o comunidad sin tener en cuenta la condición sanitaria de los animales, esto podría ser un indicador del porque resultan positivos las comunidades de Corralcucho, Las Iglesias, Los Puentes, Valle Grande y Tambillo a la enfermedad de Brucelosis Bovina. Ya que las bacteria de *Brucella abortus* permanecen vivas hasta 100 días en suelos húmedos, 75 días en heces húmedas de vaca, hasta 14 días en aguas estancadas con temperatura alrededor de 4°C, hasta 120 días en la mantequilla y membranas fetales secar y troceadas (2). Huguent indica que el manejo de los animales con relación al movimiento continuo de éstos. Es decir los animales que se encuentran en seca y animales jóvenes son llevados a las alturas, movilizándose a diferentes zonas en varios distritos y si uno de ellos presentaba la enfermedad, esta podría diseminar la enfermedad en varios distritos (14). Ya

que la vía de infección más frecuente es el tracto gastrointestinal, por la ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas por *Brucellas* (35).

4.3. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN EDAD DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA – CUTERVO 2017.

En el cuadro 3 y grafico 3 se muestra el porcentaje de prevalencia de Brucelosis Bovina según edad, observándose la mayor frecuencia de reactores positivos a la prueba Rosa de Bengala al grupo etario de 3 a 4 años con $20.93\% \pm 0.1216\%$ (9/43 animales), seguido de 1 a 2 años $6.33\% \pm 0.0536\%$ (5/79 animales); de 5 a 6 años $10\% \pm 0.1315\%$ (2/20 animales), 6 a 12 meses $6.45\% \pm 0.0865\%$ (2/31 animales), de 7 a 10 años $7.14\% \pm 0.1349\%$ (1/14 animales). Sin embargo estadísticamente según la prueba del Chic Cuadrado ($P > 0.05$) no se encontró una diferencia significativa que demuestre la importancia del factor edad.

Cuadro 3: Prevalencia de Brucelosis Bovina según lugar de procedencia en el distrito la Ramada – Cutervo- 2017.

Edad	Total de vacunos muestreados	Casos negativos de Brucelosis bovina	Casos positivos de Brucelosis bovina	Prevalencia %	Intervalo de confianza
6 – 12 meses	31	29	2	6.45	± 0.0865
1 - 2 años	79	74	5	6.33	± 0.0536
3 - 4 años	43	34	9	20.93	± 0.1216
5 -6 años	20	18	2	10.00	± 0.1315
7 - 10 años	14		1	7.14	± 0.1349
total	187		19	10.16	± 0.0433
$X^2C = 6.47$ NS $X^2t(4,0.05) = 9.4877$					

FUENTE: EL INVESTIGADOR

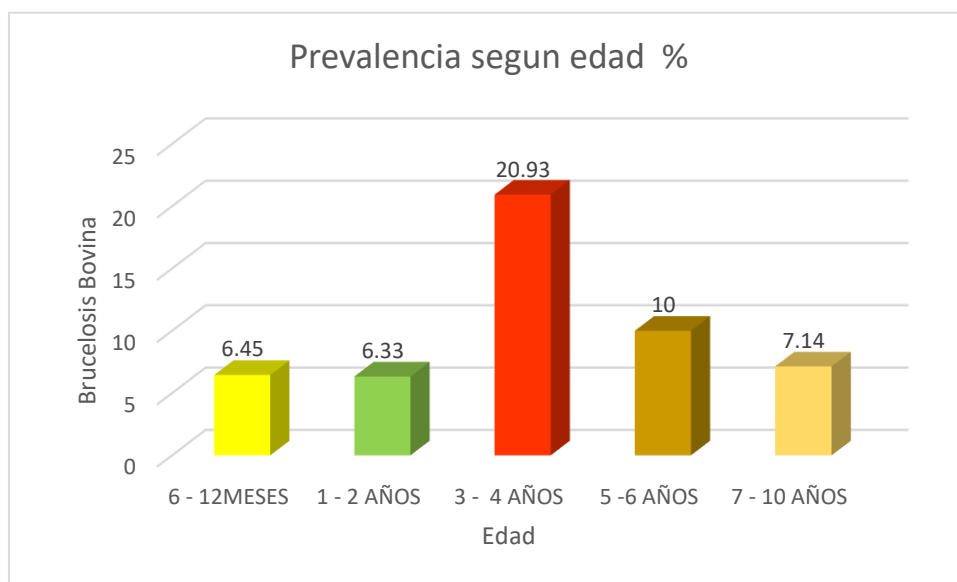


Gráfico 3 Prevalencia de brucelosis bovina según edad en el distrito la Ramada – Cutervo-2017.

FUENTE: EL INVESTIGADOR

Según los datos obtenidos la mayor prevalencia es de 20.93% a la edad de 3 a 4 años, estos resultados lo podemos comparar con otros obtenidos en otras investigaciones tales como, la investigación de Pintado quien indica que a la edad 3 a 6 años, la prevalencia es de 8.7% (19), Huguent indica una prevalencia de 0.21% a la edad reproductiva (14). El uso de toros infectados para inseminación artificial constituye un peligro importante, ya que así puede difundirse la infección en muchos rebaños (35). Pintado indica en su trabajo de investigación que el mayor o menor número de casos positivos es la utilización de un animal macho como reproductor, estos son considerados como fuente de infección (19).

La prevalencia 6.45% de brucelosis bovina a la edad de 6 a 12 meses son aquellas crías, que en el tiempo de preñez de sus madres tuvieron la enfermedad pero los fetos llegaron a término, logrando nacer vivos pero débiles siendo ellos portadores (35). También 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; momento en el cual comienza a desechar el microorganismo (34).

La prevalencia de 6.33% de brucelosis bovina a la edad de 1 a 2 años, los animales de un año de edad quizás fueron infectados por vía oral, por el consumo de pastos y aguas contaminadas; ya que Acha afirma que la vía de contaminación más frecuente es la vía oral (35) o fueron crías de madres portadoras de la enfermedad (34), las de dos años de edad

resultan positivo quizás por la monta natural, como indica Calle sin el control sanitario de los animales (28) o por la inseminación artificial cuando se deposita el semen contaminado en el útero, mas no el cuello del útero expresa Spickler (24), las vaquillas no quedan preñadas y vuelven a repetir el celo, tal como lo indica Acha (35). Las vacas inseminadas artificialmente con semen infectado, los calores pueden volver repetidas veces, las hembras no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan con anterioridad al servicio muchas veces no abortan (35). Después que una vaca infectada aborta o pare normalmente, el agente no permanece mucho tiempo en el útero. La infección se vuelve crónica y las *Brucellas* se acantonan en los ganglios y glándulas mamarias de la vaca (35), esto explica por qué las vacas de 3 años en adelante son reactores positivos a brucelosis bovina.

4.4. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN SEXO DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA- CUTERVO 2017.

El cuadro 4 y grafico 4, muestran la prevalencia de Brucelosis Bovina según sexo, observándose que las hembras presentaron 15 casos positivos de 114 hembras muestreadas, con un porcentaje de prevalencia de $13.16\% \pm 0.062\%$; en los machos se presentó 4 casos positivos de 73 machos muestreados, con un porcentaje de $5.48\% \pm 0.0522\%$.

Al efectuar la prueba del Chi Cuadrado, con una significancia de 5%, indica que la prevalencia de Brucelosis Bovina es independiente del sexo dl ganado bovino ($P>0.05$) .

(Anexo 4)

Cuadro 4: Prevalencia de Brucelosis Bovina según sexo en el distrito La Ramada – Cutervo- 2017.

Sexo	Total de vacunos muestreados	Casos negativos de brucelosis bovina	Casos positivos de brucelosis bovina	Prevalencia %	Intervalo de confianza
HEMBRA	114	99	15	13.16	± 0.062
MACHO	73	69	4	5.48	± 0.0522
TOTAL	187		19	10.16	± 0.0433
X ² C=2.58 NS X ² T(1,0.05)=3.8415					

FUENTE: EL INVESTIGADOR

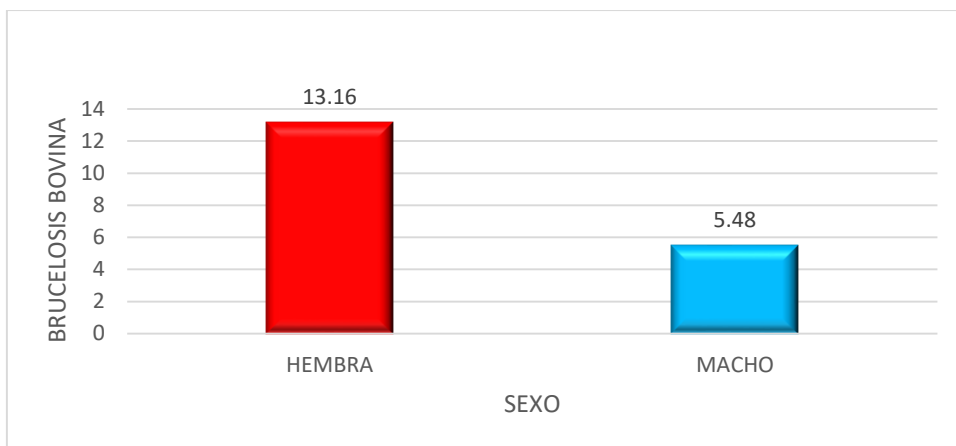


Gráfico 4: Prevalencia de brucelosis bovina según sexo del ganado bovino del distrito La Ramada - Cutervo- 2017 .

FUENTE: EL INVESTIGADOR

En el presente estudio las hembras presentan una mayor probabilidad de padecer con brucelosis. Resultados similares se reportaron en la provincia de Canta -Lima (14), país de Colombia (10), país de Argentina (7); lo que podría atribuirse a que las hembras son más susceptibles a sufrir la infección y que los machos son más resistentes (35), aunque esta hipótesis es cuestionable porque otros autores al igual que la nuestra sostiene que la infección es independiente del sexo. Además se ha reportado que los toros infectados tienen una mayor probabilidad de infectar a las hembras a través de la monta natural (19). Aspecto que pudiera explicar los resultados encontrados.

4.5. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA SEGÚN RAZA DEL GANADO BOVINO EN EL DISTRITO LA RAMADA -CUTERVO-2017.

En el cuadro y grafico n° 5 rebela la prevalencia de Brucelosis Bovina en el distrito la Ramada, según raza, observándose el mayor porcentaje de prevalencia a la prueba Rosa de Bengala a Bronsuis con $16.6\% \pm 0.21018\%$ (2/12 animales bovinos); Fleckvieh $11.36\% \pm 0.0663\%$ (10/88 animales bovinos), criolla $10.45\% \pm 0.0732\%$ (7/67 animales bovinos), Holstein 0% (0/20 animales bovinos).

Al ejecutar la prueba del Chi Cuadrado, con una significancia de 5 %, indica que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente de la raza ($P > 0.05$) (Anexo 5)

Cuadro 5: Prevalencia de brucelosis bovina según la raza del ganado bovino en el distrito La Ramada- Cutervo 2017.

Raza	Total de vacunos muestreados	Casos positivos de brucelosis bovina	Prevalencia %	Intervalo de confianza
CRIOLLA	67	7	10.45	0.0732
FLECKVIEH	88	10	11.36	0.0663
HOLSTEIN	20	0	0.00	
BRONSUIS	12	2	16.67	0.2108
TOTAL	187	19	10.16	0.0433
$X^2C= 2.66$ SS $X^2T(3,0.05)=7.8147$				

FUENTE: EL INVESTIGADOR

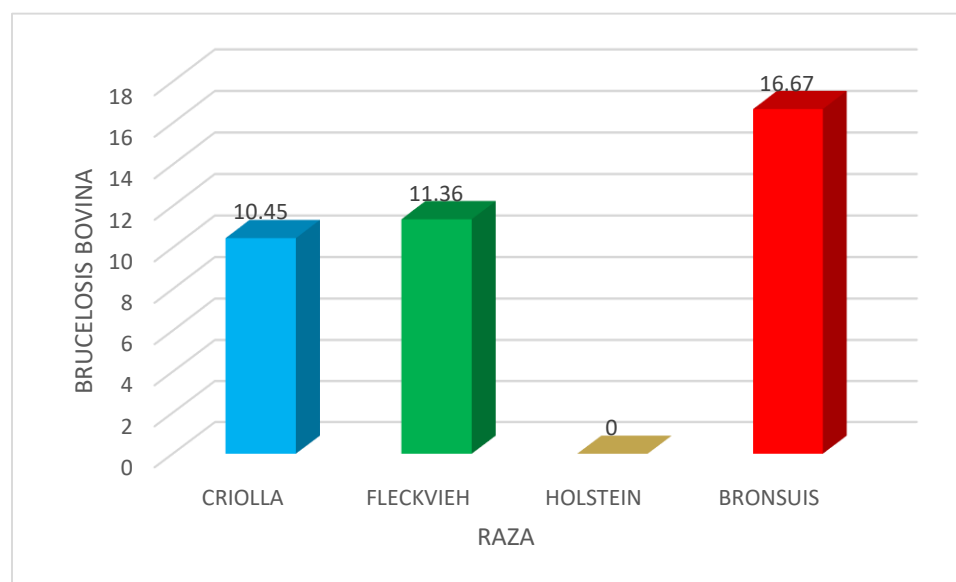


Gráfico 5: Prevalencia de Brucelosis Bovina según raza del ganado bovino en el distrito La Ramada-Cutervo 2017.

FUENTE: EL INVESTIGADOR

El resultado obtenido en la prevalencia de brucelosis bovina según la raza concuerda con Pintado manifestando que las razas Bronsuis y Fleckvieh son más susceptibles a la enfermedad, esto debido que las razas lecheras es la más susceptible a contraer la enfermedad (19).

Los 19 sueros sanguíneos bovinos que fueron positivos a la prueba serológica Rosa de Bengala fueron corroborados por la prueba Fijación de complemento por el laboratorio del

Hospital de Jaén, confirmando que los 19 sueros sanguíneos fueron positivos a la prueba de FC.

V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye que:

1. La seroprevalencia de Brucelosis Bovina, mediante la prueba Rosa de Bengala en el distrito la Ramada, Provincia de Cutervo, Región de Cajamarca durante el periodo Diciembre 2017 – Enero 2018, fue de 10.16% \pm 4.33% y no estuvo afectada por las variables lugar de procedencia, edad, sexo y raza.
2. De 187 bovinos muestreados, 10.16% de bovinos resultaron (+) a Brucelosis bovina y 89.84% bovinos resultaron (-) a Brucelosis bovina.
3. El caserío Corralcucho presentó el mayor porcentaje de prevalencia a Brucelosis Bovina con 24.0% \pm 0.1674%.
4. La prevalencia de brucelosis bovina más alta fue a la edad de 3 a 4 años con 20.93% \pm 0.1216% que es la edad reproductiva del animal.
5. Las reacciones positivas fueron mayores en hembras con una prevalencia de 13.16% \pm 0.062%.
6. Las razas más vulnerables a contraer la enfermedad son Bronsuis con 16.67% \pm 0.2108%, Fleckvieh con 11.36% \pm 0.0663%.
7. Se concluye que la prueba serológica Rosa de Bengala fue de vital importancia para la detección de Brucelosis Bovina y la prueba de Fijación de complemento es esencial para confirmar dicha detección.

VI. RECOMENDACIONES.

- SENASA debe de realizar un muestreo al 100% de todos los bovinos del distrito de La Ramada, para tomar las acciones respectivas según el plan de control y erradicación de Brucelosis Bovina, ya que es una de las zonas productoras de leche, manufacturera de queso y yogur.
- SENASA y el MINSA deben brindar charlas sobre Brucelosis Bovina a los ganaderos y los pobladores sobre los problemas sanitarios, económicos y sociales que acarrearán esta zoonótica y degenerativa enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lucero NEGASyHD. www.rosario.gob.ar. [Online].; 1997 [cited 2019 04 25. Available from: <https://www.rosario.gob.ar/mr/epidemiologia/vigilancia/vigilancia-intensificada/brucelosis/manual-de-procedimientos-tecnicas-para-el-diagnostico-de-brucelosis-humana-2008/view>.
2. Bathke W. Brucelosis. In Beer J. Enfermedades infecciosas de los animales domesticos. Zaragoza: Acribia; 1981. p. 142_156.
3. Hagan B. Enfermedades infecciosas de los animales domesticos Zaragoza: Acribia; 1983.
4. Meyer M. Brucella. In Biberstein E, Chung Zee Y. Tratado de microbiología veterinaria. Zaragoza: Acribia; 1990. p. 283-291.
5. OIE. OIE. [Online].; 2004 [cited 2017 septiembre 15. Available from: <http://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf>.
6. Zornoza Cantos R, Luján Núñez H. SCRIBD. [Online].; 2004 [cited 2017 Septiembre 15. Available from: <https://es.scribd.com/document/62449247/GUIA-BRUCÉLOSIS>.
7. Rojas Idalgo G. SENASA. [Online].; 2012 [cited 2017 Septiembre 28. Available from: <http://www.senasa.go.cr/senasa/sitio/files/060114055646.pdf>.
8. SENASA. [Online].; 2014 [cited 2017 Octubre 3. Available from: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENESA/ANIMAL/BOVINOS_BUBA LINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y_ESTRAT/BRUCÉLOSIS/15_d-informe_final_muestreo_brucelosis_bovina_ano_2014_10-12-15.pdf.
9. Córdova Izquierdo A. bmeditores. [Online].; 2016 [cited 2017 Octubre 1. Available from: <http://bmeditores.mx/importancia-brucelosis-bovina-consecuencias-economicas-para-ganadero/>.
10. Ortiz Bolaños Á. Analisis de seropositividad de brucelosis bovina mediante Elisa competitiva y fluorescencia polarizada,entre el 1 de septiembre y el 15 de febrero de 2015 en el laboratorio de diagnóstico veterinario del instituto colombiano agropecuario (ICA). Tesis de grado. Colombia: Universidad de Nariño, Salud Animal; 2015.
11. Zambrano Aguayo MDPRRVX. Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los factores de riesgo. RevInvVetPerú. 2016; 27(3).
12. Calderon Rangel ALAAM. Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. redalyc.org. 2015 junio; 19(2): p. 7.
13. Ojeda Gutiérrez E. Identificación molecular de Brucella spp. en muestras de sangre de gando bovino de la provincia de Zamora Chinchipe. Ciencias Biologicas. Guayaquil: Universidad de Guayaquil., Unidad de posgrado , investigación y desarrollo.; 2017.

14. Huguent C. Determinación de la presencia de *Brucella* spp. En bovinos de la provincia de Canta-Lima. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Medicina Veterinaria; 2004.
15. Meza Cristóbal A. Seroprevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca, Huánuco. Tesis para optar por el Título de Medico Veterinario. Huánuco: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Medicina Veterinaria; 2008.
16. Valderrama W. SENASA. [Online].; 2013 [cited 2017 Octubre 1. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/11/Bolet%C3%ADn-SARVE-2011-cuadro-2.pdf>.
17. Bardales M. Prevalencia de brucelosis bovina en las cuencas de Mashcón y Chonta -Cajamarca, 2016. Tesis de Grado. Cajamarca : Universidad Nacional de Cajamarca , Escuela Academico Profecional de Medicina Veterinaria; 2016.
18. Chinguel X. Prevalencia de Brucelosis bovina mediante la prueba Rosa de Bengala en el Distrito de San Jose de Lurdes Proviencia de San Ignacio. Tesis de Grado. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Medicina Veterinaria; 2017.
19. Pintado J. Incidencia de brucelosis bovina en el distrito de San Andrés - Provincia de Cutervo, mediante proeva de seroaglutinación. Tesis para obter por el titulo de Medico Veterinario. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Medicina Veterinaria; 1993.
20. SENASA. Programa de Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina. Cutervo: SENASA, Cajamarca; 2015.
21. Acosta Andrade M, Ortiz Moreno M. SENASA. [Online].; 2014 [cited 2017 Septiembre 15. Available from: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Pruebas-diagnosticas-en-Brucelosis-Bovina.pdf>.
22. Guzmán Hernández RL, Contreras Rodríguez A, Ávila Calderón ED, Morales García R. Brucelosis: zoonosis de importancia en México. Revista Chilena Infectol. 2016 Septiembre 14; 33(6): p. 7.
23. César Augusto Vega López RAAFLRW. BRUCELOSIS. UNA INFECCIÓN VIGENTE. MEDIGRAPHIC ARTEMISA. 2008 Octubre; 6(4).
24. Spickler A. CFSPH. [Online].; 2009 [cited 2017 septiembre 28. Available from: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_abortus-es.pdf Consultado en [15 de septiembre 2017].
25. Cyberpower. Wikipedia. [Online].; 2017 [cited 2018 Octubre 17. Available from: <https://es.m.wikipedia.org/wiki/Brucella>.

26. Delgado Moyano N, Vergara Espinoza M. Microbiología veterinaria Lambayeque: Editores; 2012.
27. HERRERA SC. <http://bvs.minsa.gob.pe/>. [Online].; 2003 [cited 2019 Mayo 12. Available from: http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1355_INS85.pdf.
28. Calle Laureano JP. Control y erradicación de *Brucella abortus* en establos lecheros. Tesis para optar por el Título de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Medicina Veterinaria ; 2009.
29. Ariza RVFR. Medigraphic. [Online].; 2008 [cited 2018 10 19. Available from: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDREVISTAS=32&IDARTICULO=19041&IDPUBLICACION=1949&NOMBRE=Acta%20M%E9dica%20%20C1ngeles>.
30. Aréstegui MGDJ. VetMex. [Online].; 2001 [cited 2018 10 12. Available from: <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol32-02/RVM32206.pdf>.
31. Estein S. REDVET. [Online].; 2006 [cited 2018 08 18. Available from: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050506/050601.pdf>.
32. Paredes Vargas SR. Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la Parroquia Alluriquin, Recinto Cristal de Ielía. Proyecto de Investigación. Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército, Ciencias de la vida Ingeniería Agropecuaria.; 2012.
33. Quinn P, Markey B, Maguire D. Elementos de microbiología veterinaria Zaragoza: Acribia; 2002.
34. Gonzalez K. Zoovetespasión. [Online].; 2017 [cited 2017 Octubre 2. Available from: <http://zoovetespasion.com/la-brucelosis-bovina/>.
35. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Tercera ed. Washington: OPS; 2001.
36. Hernández Santiago R. Brucelosis. Revista Médica de la Universidad Veracruzana. 2002 Julio; 2(2).
37. Errico Maio F. Engormix. [Online].; 2015 [cited 2017 Octubre 3. Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/prevencion-control-erradicacion-brucelosis-t32053.htm>.
38. Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino Madrid: McGraw-Hill; 2002.
39. Jawetz E, Melnick J, Adelbert E. Microbiología médica México: El manual moderno; 1992.

40. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Senasa. [Online].; 2013 [cited 2019 mayo 25. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/Gu%C3%ADa-de-Buenas-Pr%C3%A1cticas-Ganaderas-animada.pdf>.
41. OIE. [Online].; 2012 [cited 2017 Octubre 3. Available from: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENESA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y ESTRAT/BRUCELOSIS/2.04.03_bovine_brucell.pdf.
42. L. G. Medida de Prevalencia y relación de incidencia. In Prevalencia. Barcelona: M. E. D; 1995. p. 105 - 216.
43. Nicola A, Elena S. wikispaces. [Online].; 2009 [cited 2017 Octubre 2. Available from: <https://bpl2009.wikispaces.com/file/view/Manual+Brucelosis+SENASA+2009.pdf>.
44. Lucero N, Escobar G, Ayala S, Hasan D. brizuela-lab. [Online].; 2008 [cited 2017 octubre 1. Available from: <http://www.brizuela-lab.com.ar/resumenes/WHO2008Brucella.pdf>.
45. ARESTEGUI MGC. El género brucella y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. E-JOURNAL. 2002 ENERO; 32(2).
46. Ojeda Gutiérrez K. Identificación molecular de la Brucella spp. en muestras de sangre de ganado bovino de la provincia de Zamora Chichipe. Tesis Magistral. Guayaquil: Universidad de Guayaquil, Unidad de posgrado investigación y desarrollo; 2017.
47. Agraria SNdS. Senasa. [Online].; 2013 [cited 2019 mayo 25. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/Gu%C3%ADa-de-Buenas-Pr%C3%A1cticas-Ganaderas-animada.pdf>.

ANEXOS

Anexo 1 Tamaño de la muestra por caseríos según la población de ganado bovino del distrito de La Ramada, provincia de Cutervo

CASERÍOS	N° VACUNOS	TAMAÑO DE LA MUESTRA
LA CUBILLINA	94	13
CHACRERILLAS	43	6
LOS PUENTES	105	14
SURO CHICO	248	35
LAS IGLESIAS	149	21
VALLE GRANDE	191	28
COCHAGAN	66	9
CORRALCUCHO	179	25
TAMBILLO	172	24
LA RAMADA	49	7
LA LAGUNA	32	5
TOTAL	1328	187

Fuente: SENASA - CDT Cutervo, octubre 2017

Anexo 2: Prueba del Chi-cuadrado para prevalencia de brucelosis bovina según lugar de procedencia, distrito La Ramada- Cutervo 2017.

CASERIOS	FRECUENCIA OBTENIDA		TOTAL	FRECUENCIA ESPERADA		X ² C
	POSITIVOS	NEGATIVOS		POSITIVOS	NEGATIVOS	
LA LAGUNA	0	5	5	0.50802139	4.49197861	0.508
CUBILLINAS	0	13	13	1.32085561	11.6791444	1.321
CHACRERILLAS	0	6	6	0.60962567	5.39037433	0.610
RAMADA	0	7	7	0.71122995	6.28877005	0.711
LAS IGLESIAS	4	17	21	2.13368984	18.8663102	1.632
SURO CHICO	1	34	35	3.55614973	31.4438503	1.837
CORRAL CUCHO	6	19	25	2.54010695	22.459893	4.713
COCHAGAN	0	9	9	0.9144385	8.0855615	0.914
TAMBILLO	2	22	24	2.43850267	21.5614973	0.079
LOS PUENTES	2	12	14	1.42245989	12.5775401	0.234
VALLE GRANDE	4	24	28	2.84491979	25.1550802	0.469
TOTAL	19	168	187			13.029

$$X^2C = 13.029 \quad X^2T(10,0.05) = 18.307$$

H₀: La brucelosis bovina es independiente del lugar de procedencia.

H_a: La brucelosis bovina es dependiente del lugar de procedencia.

X²_c: Chi- Cuadrado Calculada

X²_t: Chi- Cuadrado Tabulada.

N.S.: No significativo

Puesto que el valor del estadístico (13.029) es menor que el valor crítico, se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente del lugar de procedencia.

Anexo 3: Prueba del Chi-cuadrado para prevalencia de brucelosis bovina según edad, en el distrito La Ramada – Cutervo 2017.

EDAD	FRECUENCIA OBTENIDA		TOTAL	FRECUENCIA ESPERADA		X ² C
	POSITIVOS	NEGATIVOS		POSITIVOS	NEGATIVOS	
6 - 12 MESES	2	29	31	3.15	27.85	0.42
1 - 2 AÑOS	5	74	79	8.03	70.97	1.14
3 - 4 AÑOS	9	34	43	4.37	38.63	4.91
5 - 6 AÑOS	2	18	20	2.03	17.97	0.00
7 - 10 AÑOS	1	13	14	1.42	12.58	0.13
TOTAL	19	168	187			6.60
X ² C= 6.60 X ² T(4,0.05)=9.4877						

H₀: La brucelosis bovina es independiente de la edad.

H_a: La brucelosis bovina es dependiente de la edad.

X²_c: Chi- Cuadrado Calculada

X²_t: Chi- Cuadrado Tabulada.

N.S.: No significativo

Puesto que el valor del estadístico (6.60) es menor que el valor crítico, se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente de la edad.

Anexo 4: Prueba del Chi-cuadrado para prevalencia de brucelosis bovina según sexo, en el distrito La Ramada – Cutervo 2017.

SEXO	FRECUENCIA OBTENIDA		TOTAL	FRECUENCIA ESPERADA		X ² C
	POSITIVO	NEGATIVOS		POSITIVO	NEGATIVOS	
HEMBRA	15	99	114	11.58	102.42	1.01
MACHO	4	69	73	7.42	65.58	1.57
TOTAL	19	168	187			2.58
X ² C= 2.58 X ² T(1, 0.05)=3.8415						

H₀: La brucelosis bovina es independiente del sexo.

H_a: La brucelosis bovina es dependiente del sexo.

X²_c: Chi- Cuadrado Calculada

X²_t: Chi- Cuadrado Tabulada.

N.S.: No significativo

Puesto que el valor del estadístico (2.58) es menor que el valor crítico, se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente del sexo.

ANEXO 4.

Anexo 5: Prueba del Chi-cuadrado para prevalencia de brucelosis bovina según raza, distrito La Ramada-Cutervo 2017.

RAZA	FRECUENCIA OBTENIDA		TOTAL	FRECUENCIA ESPERADA		X ² C
	POSITIVO	NEGATIVOS		POSITIVO	NEGATIVO	
CRIOLLA	7	60	67	6.81	60.19	0.01
FLECKVIEH	10	78	88	8.94	79.06	0.13
HOLSTEIN	0	20	20	2.03	17.97	2.03
BRONSUIS	2	10	12	1.22	10.78	0.50
TOTAL	19	168	187			2.66
X ² C= 2.66 X ² T(3, 0.05)= 7.8147						

H₀: La brucelosis bovina es independiente de la raza.

H_a: La brucelosis bovina es dependiente de la raza.

X²_c: Chi- Cuadrado Calculada

X²_t: Chi- Cuadrado Tabulada.

N.S.: No significativo

Puesto que el valor del estadístico (2.66) es menor que el valor crítico, se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina es independiente de la raza.

Anexo 6: Mapa de La Provincia de Cutervo



Anexo 7: Materiales para la obtención de las muestras.



Anexo 8: Obtención de muestras



Anexo 9: Muestras obtenidas



Anexo 10: Extravasación del suero de los tubos vacutainers a los viales.



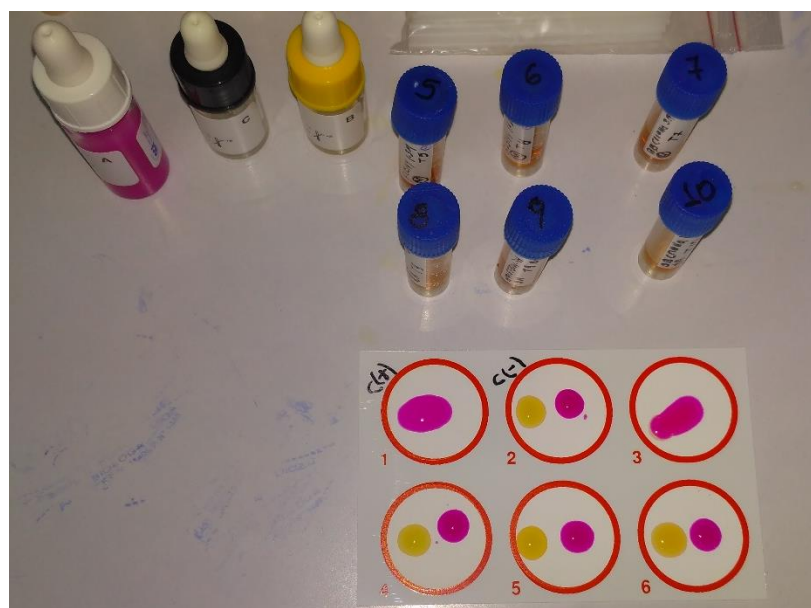
Anexo 11: rotulación de los viales con los datos respectivos.



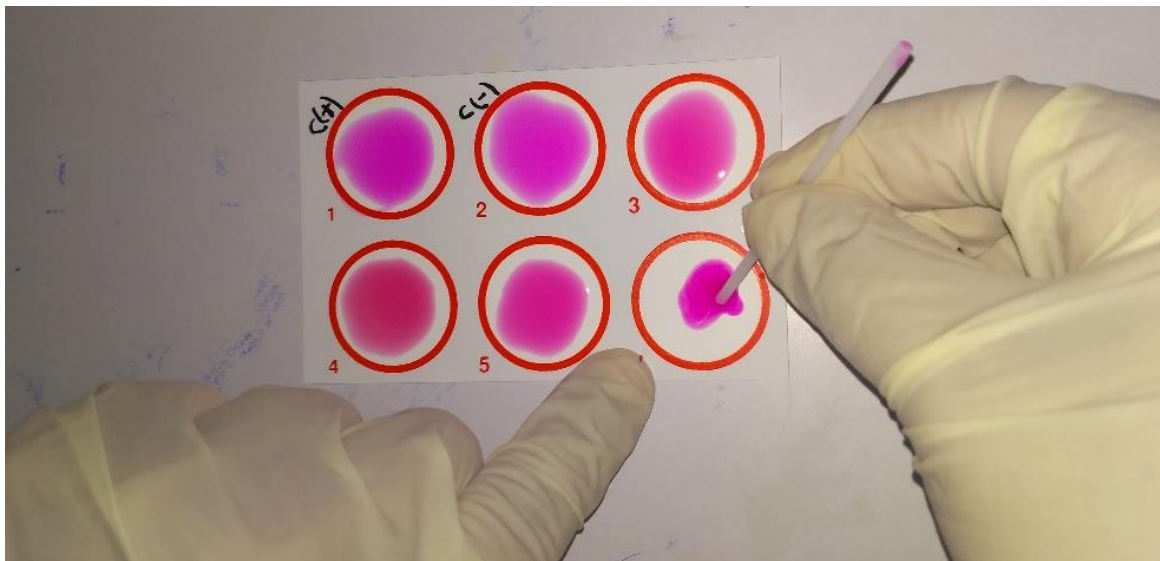
Anexo 12: Extravasación de los sueros sanguíneos a los viales.



Anexo 13: Proceso de las muestras, reactivo y muestra.



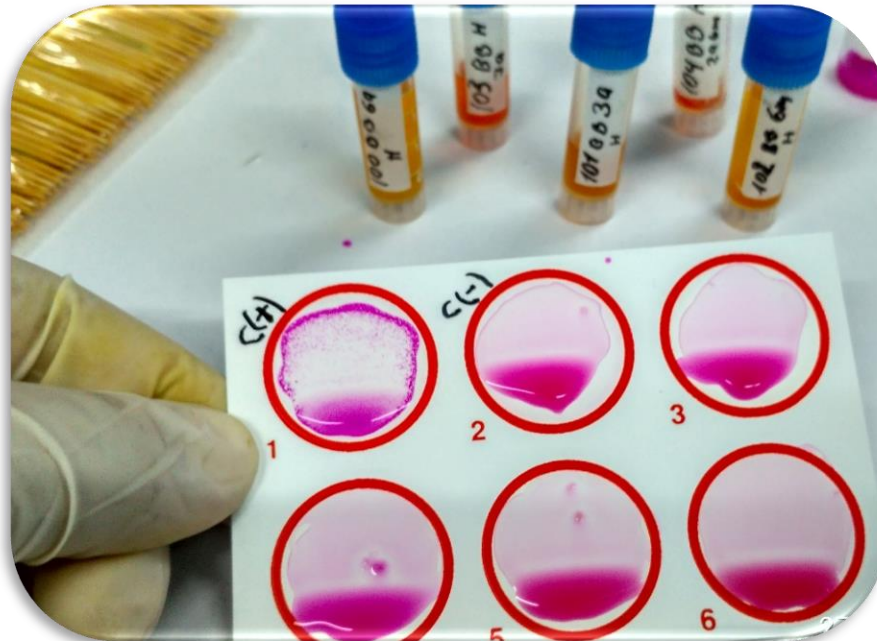
Anexo 14: Homogenización del reactivo y la muestra.



Anexo 15: Rotación de la muestras en el rotados por 4 minutos



Anexo 16: Lectura de la reacción antígeno y anticuerpo. Caso Positivo Vial 100.



Anexo 16: fichas de registro de datos y anotaciones de resultados de la prueba RB

Secretaría de Agricultura, Ganadería,
Pesca y Alimentación

Servicio Nacional de Sanidad
y Calidad Agroalimentaria

AVISO DE TAREAS SANITARIAS

PLAN NACIONAL DE CONTROL Y ERRADICACION DE BRUCELOSIS Y TUBERCULOSIS BOVINA

☐
BRUCELOSIS

☐
TUBERCULOSIS

Fecha	Cantidad total de animales	Tareas: Brucelosis/TBC

DATOS DEL PRODUCTOR Y DEL ESTABLECIMIENTO

Propietario ó Razón Social:
Domicilio:
Dirección Postal: Tel/Fax:
Establecimiento:
Localidad: Dpto /Partido: Provincia:

POBLACION BOVINA A EXAMINAR

Vacas	Vaquillonas	Novillos	Terneros	Terneras	Toros	Total Bovinos

VETERINARIO ACREDITADO

Apellido y Nombre:
Matrícula N° : Expedida por:
Acreditación de SENASA N° Domicilio:
Teléfono: Provincia:
Localidad : Partido/Dpto. :

LUGAR Y FECHA:

FIRMA DEL PRODUCTOR

FIRMA Y SELLO VETERINARIO ACREDITADO

PLAN NACIONAL DE CONTROL Y ERRADICACION DE BRUCELOSIS Y TUBERCULOSIS BOVINA

PROTOCOLLO N°

FECHA DE EXTRACCIÓN: _____ FECHA ENVÍO: _____ CANTIDAD DE MUESTRAS: _____

TIPO DE RODEO: Lechero ☐ Carne ☐ Mixto ☐
 TOTAL BOVINOS: Vacas Vaquillonas Toros
 Otras especies: Porcinos Ovinos Caprinos

MOTIVO DEL ENVIO:

PROCEDENCIA

Establecimiento: . . .
Nº RENSPA: . . .
Propietario:
Localidad:
Dpto./Pdo.:
Provincia:

U.E.L.:
Domicilio
Tel/fax:
Oficina Local SENASA:
Tel/fax:

REMITENTE
Veterinario Acreditado Mat. N°..
Apellido y Nombre: ..
Domicilio:

[illegible]