

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN LAS CUENCAS**  
**MASHCÓN Y CHONTA - CAJAMARCA, 2016**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de  
**MÉDICO VETERINARIO**

Presentada por el Bachiller  
**MIGUEL ANGEL BARDALES SALCEDO**

Asesor  
**M.V. HUGO AMÉRICO ZAMBRANO VARGAS**

**CAJAMARCA – PERÚ**  
**2017**

## **DEDICATORIA**

En primer lugar a Dios, por haberme guiado por el camino del bien, en segundo lugar a cada uno de los que son parte de mi familia. A mi PADRE Teófilo Bardales, mi MADRE Doraliza Salcedo, a mis hermanos y al hogar que estoy formando; por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora. También, a mi asesor de tesis quién me ayudó en todo momento M.V. Hugo A. Zambrano Vagas.

**EL AUTOR**

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en vacunos de las cuencas Mashcón y Chonta entre los meses septiembre, octubre y noviembre del año 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 (Servicio Nacional de seguridad Agraria) Baños del Inca. La prevalencia se calculó mediante la siguiente fórmula:  $\text{Prevalencia} = \left[ \frac{\text{Total de casos existentes en un periodo de tiempo}}{\text{Población total en el periodo de tiempo}} \right] * 100$  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%.

**Palabras clave:** Brucelosis, prevalencia, prueba rosa de bengala, prueba fijación de complemento.

## ABSTRACT

The present investigation was carried out in the beef of the basins Mashcón and Chonta between September, October and November of 2016, with the objective of determining the prevalence of bovine brucellosis. The diagnosis was made using the Bengal pink test and the complement fixation. A total of 766 animals were sampled, blood samples were collected from the coxigenic vein, approximately 5-8 ml in tubes without anticoagulant and then analyzed in the laboratory of SENASA Baños del Inca. The prevalence was calculated using the following formula:  $\text{Prevalence} = [\text{Total cases in a time period} / \text{Total population in the time period}] * 100$  and then worked under the Z-test of proportions. In the result a prevalence of 0.13% was determined and by the Z-test of the proportions we conclude that the prevalence is less than 01%.

**Keywords:** Brucellosis, prevalence, rose bengal test, complement fixation test.

## ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**Pág.**

**CAPÍTULO I**

**INTRODUCCIÓN**

**1**

**Objetivos**

**2**

**CAPÍTULO II**

**MARCO TEÓRICO**

**3**

2.1.- ANTECEDENTES DE BRUCELOSIS

3

2.2.- BRUCELOSIS BOVINA

4

2.3.- SIGNOS CLÍNICOS

7

2.4.- LESIONES

8

2.5.- RESPUESTA INMUNE

9

2.6.- FISIOPATOLOGÍA

11

2.7.- DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS BOVINA

12

2.8.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

16

2.9.- PREVENCIÓN

16

2.10.- EPIDEMIOLOGÍA DE BRUCELOSIS BOVINA

19

2.11.- PREVALENCIA

25

<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS</b>	<b>34</b>
<b>CAPÍTULO V</b>	
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO VI</b>	
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO VII</b>	
<b>LISTA DE REFERENCIAS</b>	<b>39</b>
<b>ANEXO</b>	<b>45</b>

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad distribuida a nivel mundial y que actualmente la Región de Cajamarca viene siendo afectada por casos de Brucelosis Bovina (SENASA, 2015), provocando aborto e infertilidad en sus hospedadores naturales, las cabras, las ovejas, las vacas y las cerdas. Además de afectar a sus hospedadores preferenciales, *Brucella sp.* afecta a otras especies domésticas y salvajes que a su vez, pueden ser reservorios de la enfermedad para otras especies animales y para el ser humano. Por lo tanto, la brucelosis se considera una importante zoonosis, que se transmite por contacto directo con los animales y/o con sus secreciones o por el consumo de leche y subproductos lácteos (Aparicio, 2013), pues muchas personas por sus actividades laborales están en contacto directo con los animales, como sucede con los ordeñadores, sanitarios, Médicos Veterinarios y otros (Acha, y Szifres, 2003).

Es imprescindible resaltar la importancia de la vigilancia epidemiológica de brucelosis al referirnos como una zoonosis, ya que es un peligro para la salud de la población en general y además da lugar a grandes pérdidas económicas, no sólo en vacunos, sino también en otras especies, razón por la que sigue siendo hasta nuestros días preocupante (Abdala, 1998).

## **1. OBJETIVO**

### **1.1. Objetivo General**

Determinar la prevalencia de brucelosis bovina en las cuencas Mashcón y Chonta, mediante la prueba rosa de bengala y comprobación de los positivos con la prueba de fijación de complemento.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DE BRUCELOSIS

El Perú cuenta desde 1998 con el Programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina, en 1999 se efectuó el primer monitoreo para conocer la situación epidemiológica de brucelosis bovina en las principales cuencas lecheras del Perú; determinándose prevalencias muy bajas como sigue: de 0.07% al evaluar 33046 muestras de suero sanguíneo resultando 22 casos positivos; el 2000 fue de 0.06% y el 2001 fue de 0.01 % y el 2003 fue de 0.026% (Meza, 2008).

Según Resolución Jefatural N° 008 -2003-AG-SENASA del 20 de Enero del 2003, con el que se reconocen a las provincias de Cajamarca, Cajabamba, Celendín, San Marcos, San Miguel y San Pablo del departamento de Cajamarca; provincias de Cusco, Canchis, Espinar y La Convención del departamento del Cusco; provincias de Ica, Nazca, Palpa y Pisco del departamento de Ica y a las provincias de Jauja, Concepción, Chupaca y Huancayo del departamento de Junín como áreas libres de Brucelosis bovina (SENASA, 2015).

La prevalencia de la tuberculosis y de la brucelosis bovina en la campaña de Cajamarca ha experimentado un descenso continuo y constante a lo largo de los años 2001-2008 mostrando una prevalencia para *Brucella* de 0.0 % y Tuberculosis de 0.0 % y para ese entonces

nuestra campaña estaba libre de *Brucella* bovina y Tuberculosis (Díaz, 2011).

## **2.2. BRUCELOSIS BOVINA**

### **2.2.1. Definición**

La brucelosis, es una enfermedad infecciosa que se presenta con episodios recurrentes de fiebre, debilidad, sudoración y dolores vagos (Dellamea, 2005). Es causada por microorganismos del género *Brucella spp*, que son un grupo de bacterias intracelulares, inmóviles y de crecimiento lento (Moral, 2013).

Las personas pueden infectarse al ingerir leche de vaca, de oveja o de cabra o sus derivados (manteca, quesos) que contengan microorganismos viables, es decir productos que hayan sido fabricados con leche sin pasteurizar. También se adquiere por contacto directo con animales infectados o sus productos (manejo de sangre, orina, descargas vaginales, fetos abortados y placentas de animales infectados), razón por lo que se considera que es una enfermedad profesional de veterinarios, carniceros, granjeros y ganaderos. El período de incubación de la brucelosis, esto es el tiempo en que no se presentan todavía los síntomas, se establece entre 5 días y varios meses (con un promedio de 2 semanas) (Dellamea, 2005).

### **2.2.2. Etiología**

El agente causal de la brucelosis es la bacteria *Brucella spp*. Se trata de un cocobacilo, aeróbico, Gram negativo. Infecta en forma primaria a los animales. Se conocen 7 especies: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*,

*Brucella ovis*, *Brucella canis* y *Brucella maris*. Los reservorios naturales principales para las distintas especies son: vacunos (*B. abortus*), caprinos (*B. melitensis*), porcinos (*B. suis*), ovinos (*B. ovis*), caninos (*B. canis*), roedores (*B. neotomae*), además, la recientemente hallada en mamíferos marinos (*B. maris*) (Dellamea, 2005). *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 (Moral, 2013).

### 2.2.2.1. *Brucella Abortus*

#### ❖ Características Generales

La clasificación taxonómica sitúa al género *Brucella* en el dominio *Bacteria*, clase *Proteobacteria*, subclase *Alpha*, grupo *Rhizobiaceae* y familia *Brucellaceae*. Respecto a *Brucella abortus*, se reconocen mundialmente 7 biotipos (1 al 7) porque se suprimieron los biotipos 7 y 8, y el actual biotipo 7 corresponde al 9 de la antigua clasificación (Garrido y Garrido, 2002).

La diferenciación de especies y biotipos se realiza mediante la apariencia de sus colonias, pruebas bioquímicas, requerimientos específicos de cultivo, inhibición por colorantes y pruebas de aglutinación con sueros. En el aislamiento primario, las colonias de *B. abortus* se presentan lisas, pequeñas, brillantes, azuladas y translúcidas después de la incubación durante 3 a 5 días. Además, las cepas lisas virulentas de *B. abortus* pueden crecer en cultivos de células mononucleares sanguíneas, macrófagos peritoneales, macrófagos de glándula mamaria y líneas celulares de mamíferos (Aréstegui *et al.*, 2001).

La bacteria no se multiplica en el ambiente, simplemente persiste y la viabilidad fuera del hospedador depende de las condiciones ambientales. El microorganismo es sensible a la luz solar, a los desinfectantes y a la pasteurización, puede sobrevivir varios meses en el agua a temperaturas de 4 a 8 °C; 2.5 años a 0 °C o durante años congelado. En orina resiste 30 días, en fetos abortados 60 días y en exudado uterino 200 días; la acidificación de la leche elimina estas bacterias pero pueden mantenerse por algunos meses en la mantequilla y en los quesos blancos procesados con cuajo (Dragui, 2002).

#### ❖ **Morfología**

*Brucella abortus* es un cocobacilo pequeño gramnegativo que mide 0,5-0,6-1.5 µm, no móvil, no forma esporas, carece de pilis o flagelos, de cápsula y de plásmidos nativos (Velasco y Yamasaki, 2002). Como no se decolora por el ácido acético al 0.5% en la tinción Köster o Stamp, o también llamada técnica modificada de Ziehl-Neelsen (ZNM), se clasifica como ZNM positivo (Garrido y Garrido, 2002).

En base al aspecto de las colonias obtenidas en medio sólido, las diferentes especies de *Brucella* se clasifican habitualmente como lisas (L) o rugosas (R). El aspecto que adquieren las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido en la superficie bacteriana. *B. abortus* es clasificada como una especie lisa. Las cepas de *Brucella* en fase lisa son las más virulentas (Velasco y Yamasaki, 2002).

### ❖ Estructura Antigénica

Estructuralmente, el género *Brucella* posee una envoltura celular característica formada por la membrana externa, la membrana interna y un espacio periplasmático intermedio. La membrana externa es una capa de lipopolisacárido proteico de aproximadamente 9 nm de grosor rica en fosfatidilcolina. El componente más abundante y mejor estudiado de la membrana externa es el lipopolisacárido (LPS), sin embargo, existen otros componentes lipídicos como la ornitina y los ácidos grasos que contribuyen a la resistencia contra sustancias bactericidas (Aréstegui et al., 2001).

En el periplasma hay proteínas y un gel glucopeptídico denominado peptidoglicano (PG) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. 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, algunas de ellas importantes desde el punto de vista del diagnóstico (Gillespie y Hawkey, 2006).

## 2.3. SIGNOS CLÍNICOS

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* (Acha y Szyfres, 2003).

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 (Rivers *et al.*, 2006).

Se sabe que un porcentaje de las vacas y vaquillonas que se infectan durante la primera gestación abortan; si la infección es reciente pueden abortar hasta el 40% de estos animales, mientras que si los animales conviven con la infección durante 2 años este síntoma es menos evidente y las gestaciones posteriores normalmente se llevan a término. Otros signos clínicos clásicos en las hembras son la retención de placenta, metritis e infertilidad. Las hembras no preñadas no muestran signos clínicos y cuando se infectan con anterioridad a la concepción generalmente no abortan (Acha y Szyfres, 2003).

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 (Acha y Szyfres, 2003) o abscesos en testículos y epidídimo (Rivers *et al.*, 2006).

#### **2.4. LESIONES**

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 (Rivers *et al.*, 2006).

## **2.5. RESPUESTA INMUNE**

### **2.5.1. Inmunidad natural**

El ingreso de *Brucella* en el organismo induce la activación de los mecanismos de la respuesta innata para reducir el número inicial de bacterias promoviendo una respuesta Th1 (Linfocito T helper 1) en el hospedador. Los macrófagos, los neutrófilos, las células asesinas naturales (NK) y el complemento juegan un rol clave en esta fase temprana de la respuesta a la invasión frente a este microorganismo (Rivers *et al.*, 2006).

#### **2.5.1.1. Macrófagos**

Los macrófagos juegan un rol central en la respuesta inmune frente a *Brucella*, ya que actúan como células fagocíticas profesionales y como células presentadoras de antígenos. Sin embargo, *Brucella* es capaz de inhibir su destrucción por parte de los macrófagos. Los macrófagos son la principal célula blanco de esta infección (Rivers *et al.*, 2006).

Los macrófagos procesan antígenos en sus compartimentos intracelulares y los presentan en el contexto del complejo de histocompatibilidad mayor (MHC) a los linfocitos T, promoviendo de esta manera la respuesta inmune adaptativa. Las funciones bactericidas frente a *Brucella* se deben al hierro

presente en los macrófagos, ya que éste cataliza una reacción metabólica que incrementa la actividad de las especies reactivas de oxígeno y las especies reactivas de nitrógeno, las cuales son inducidas por el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (Rivers *et al.*, 2006).

#### **2.5.1.2. Neutrófilos**

Los neutrófilos son las primeras células del hospedador que se ponen en contacto con *Brucella*. Son atraídos al sitio de la infección por estímulos químicos originados o derivados del microorganismo, para posteriormente fagocitar la bacteria, preferentemente opsonizada para luego ser destruida por los macrófagos (Saldarriaga *et al.*, 2002).

Una vez que el patógeno es fagocitado, se desarrolla una serie de mecanismos destructivos en el neutrófilo con el fin de eliminar la bacteria, mediante la desgranulación de los gránulos del neutrófilo y el aumento del consumo de oxígeno que lleva a la aparición del radical superóxido, peróxido de hidrógeno y otros radicales derivados del oxígeno, junto con la activación de la enzima mieloperoxidasa y la fusión del lisosoma con los fagosomas que contienen la bacteria, liberándose hidrolasa ácida, glicosidasa, proteasa y lipasa (Saldarriaga *et al.*, 2002).

No obstante, la bacteria ingerida puede sobrevivir al mecanismo destructivo de los fagocitos (Rivers *et al.*, 2006), lo que permite la inhibición de la función fagosoma-lisosoma por la acidificación rápida del medio. Por lo tanto, este es el mecanismo principal para la

supervivencia intracelular de *Brucella* y un determinante principal de la virulencia bacteriana (Garrido y Garrido, 2002).

Es así que, aunque los neutrófilos son las primeras células relacionadas con la eliminación de patógenos extraños, ellos son considerados de baja eficiencia contra *Brucella*, ya que esta bacteria puede crecer y sobrevivir en su interior y además es diseminada a través de éstos a los diferentes órganos y localizaciones, desarrollándose una infección persistente (Rivers *et al.*, 2006).

### **2.5.2. Inmunidad adaptativa**

Las funciones de la respuesta inmune adaptativa en la brucelosis se basan principalmente en tres mecanismos. Primero, la generación de una respuesta humoral con producción de anticuerpos, tales como Inmunoglobulina (Ig) G2a que opsonizan al patógeno para facilitar la fagocitosis; segundo, la activación de la función bactericida de los macrófagos por acción del Interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), y tercero, la lisis de las células infectadas por medio de los linfocitos T (Rivers *et al.*, 2006).

## **2.6. FISIOPATOLOGÍA**

Las cepas virulentas de *Brucella*, cuando son fagocitadas por los macrófagos en las membranas mucosas, son transportadas hasta los ganglios linfáticos y hay una bacteriemia transitoria, luego estas bacterias son diseminadas hacia otros tejidos incluyendo el

bazo, los ganglios linfático mamarios e ilíacos. Si las bacterias no son destruidas, pueden sobrevivir largos períodos de tiempo en el interior de las células fagocíticas (Acha y Szyfres, 2003). Los ganglios linfáticos responden a la invasión por medio de una hiperplasia reticuloendotelial y linfática, que puede tardar varias semanas en producirse y persistir durante meses (Rivers *et al.*, 2006).

Posteriormente, la bacteriemia intermitente da como resultado la difusión y localización del microorganismo en los órganos del tracto reproductivo y en las glándulas asociadas en los animales sexualmente maduros. El eritritol, un alcohol polihídrico, actúa como un factor de crecimiento para *B. abortus* y está presente en una concentración elevada en la placenta del ganado bovino. Este factor de crecimiento también se encuentra en otros órganos tales como la glándula mamaria y el epidídimo (Rivers *et al.*, 2006). Asimismo, las células de la placenta, al igual que los fagocitos mononucleares, contienen una gran cantidad de receptores de manosa, lo que favorece la unión con las moléculas de manosa del extremo terminal del LPS de *Brucella* (Rivers *et al.*, 2006).

Después que una vaca aborta o pare con normalidad, el microorganismo no permanece mucho tiempo en el útero. La infección se vuelve crónica y *Brucella* se refugia en los ganglios linfáticos y en la glándula mamaria del animal (Acha y Szyfres, 2003).

## **2.7. DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS BOVINA**

El diagnóstico de la enfermedad en los animales debe realizarse sobre la base del hato. La identificación de uno o más animales infectados es suficiente evidencia de que la infección está presente en el hato y que otros animales serológicamente negativos pueden estar incubando la enfermedad y presentan un riesgo (Corbel, 2006).

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 (Langoni *et al.*, 2000).

Las pruebas diagnósticas en general se clasifican en dos categorías: aquellas que demuestran la presencia del organismo (métodos directos) y aquellas que detectan una respuesta inmune a sus antígenos (métodos indirectos) (Corbel, 2006).

### **2.7.1. 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 (Acha y Szyfres, 2003). Debe ser tomada precaución ya que otros agentes infecciosos tales como *Coxiella burnetii* o *Chlamydia* pueden parecerse superficialmente a *Brucella* (Corbel, 2006).

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 (Garrido y Garrido, 2002) 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 (Acha y Szyfres, 2003).

## **2.7.2. 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:

### **2.7.2.1. 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 (Acha y Szyfres, 2003). Posee una sensibilidad de 75% y una buena especificidad de 100 % (Corbel, 1991).

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

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 (Garrido y Garrido, 2002).

#### **2.7.2.2. Fijación de Complemento**

Es una prueba altamente sensible (97.5%) y específica (99.9%) (Nielsen, 2002), de referencia internacional y es confirmatoria para animales individuales, pero es lenta, compleja, difícil de estandarizar (Acha y Szyfres, 2003) y necesita de un buen laboratorio y personal entrenado (Corbel, 2006). 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 (Samartino, 2002). 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 debido por la infección. Además, tras una infección natural, los títulos

para la fijación de complemento no disminuyen si la enfermedad se torna crónica (Mathias *et al.*, 2001).

## **2.8. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL**

Todos los países que han calculado las pérdidas económicas de la brucelosis, han llegado a la conclusión que son millonarias, principalmente por los problemas de aborto (Dragui, 2002). Los agentes bacterianos más comunes involucrados en el aborto en bovinos son *Brucella abortus*, *Leptospira sp.*, *Campylobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacillus licheniformis*, *Listeria monocytogenes* y *Ureaplasma diversum* (Rivera, 2001).

## **2.9. PREVENCIÓN**

Para brucelosis bovina, 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 los animales de reemplazo, estos deben ser adquiridos de hatos libres de *Brucella*. Las pruebas serológicas antes de la adquisición son necesarias a menos que los animales provengan de poblaciones en áreas que se sabe son libres de la enfermedad (Corbel, 2006).

### **2.9.1. Higiene**

La meta de la aplicación de métodos de higiene para la prevención de la brucelosis bovina es la reducción de la exposición de animales susceptibles con aquellos que están infectados, o con sus descargas y tejidos. 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 de los animales están pobremente informados sobre la transmisión de la enfermedad y las recomendaciones para prevenirla. Medidas tales como la separación de los animales antes del parto pueden ser difíciles o imposibles de implementar (Corbel, 2006).

Se ha determinado que *Brucella sp.* es sensible a concentraciones de 0.5 a 1% de desinfectantes con grupos fenol, halógeno, amonio cuaternario y aldehído. Además, el gluconato de clorhexidina es un antiséptico eficaz contra *B. abortus* y se recomienda para el lavado de brazos y manos de manipuladores de animales y de veterinarios que entran en contacto con tejidos y material contaminado (Radostits *et al.*, 2002).

### **2.9.2. Cuarentena**

Este es el período de tiempo durante el cual se restringen los movimientos del ganado y se realizan pruebas a todos los animales antes de mezclarlos con el resto del hato. La duración de la cuarentena debe ser lo suficientemente larga para que todos los animales dispongan de tiempo suficiente para desarrollar la enfermedad. Este período suele variar entre 30 y 120 días o hasta que todos los animales adultos hayan completado una gestación sin signos de infección (Radostits *et al.*, 2002).

### 2.9.3. Vacunación

La vacunación es una herramienta fundamental para controlar la brucelosis. El objetivo de un programa de vacunación sistemática y obligatoria de terneras es reducir la tasa de infección y obtener hatos resistentes a la brucelosis, para luego emprender la erradicación. El lapso necesario para lograr ese objetivo se estima entre 7 y 10 años de vacunación sistemática de las terneras jóvenes (Acha y Szyfres, 2003).

Los bovinos vacunados correctamente tienen menores probabilidades de infectarse que el resto de animales, por lo tanto, no son una fuente de cepas naturales de la bacteria. A medida que se reduce el número de animales infectados en un rebaño, se reducen las posibilidades de exposición y por consiguiente, se reduce el número de nuevos casos (Radostits *et al.*, 2002).

La vacunación de los animales usualmente resulta en la eliminación de la enfermedad clínica y la reducción en la cantidad de organismos excretados por los animales que llegan a ser infectados. Adicionalmente, es más probable que los propietarios de los animales acepten la vacunación como un método de control. En muchos países, la vacunación es la única medida práctica y económica de control de la brucelosis animal (Corbel, 2006).

La fuente y calidad de las vacunas también son críticas en un programa de vacunación. La dosificación y los métodos de administración varían de acuerdo a los animales y esto puede afectar los resultados globales. Por ejemplo, frecuentemente es recomendado que la vacunación con la cepa 19 debe estar

limitada a las hembras sexualmente inmaduras. Esto es para minimizar la estimulación de los anticuerpos post-vacunales que pueden confundir la interpretación de las pruebas diagnósticas y también para prevenir posibles abortos inducidos por las vacunas en los animales adultos (Corbel, 2006). Asimismo, las vacunas liofilizadas son mejores que las vacunas líquidas por su mayor estabilidad y longevidad, pero deben mantenerse en refrigeración en todo momento y sólo deben reconstituirse cuando se necesiten (Radostits *et al.*, 2002).

En el diagnóstico de la brucelosis bovina es de especial interés conocer la evolución de las inmunoglobulinas en la infección y en la vacunación. En ambas aparecen primero las IgM y luego las IgG. La diferencia es que mientras en la infección las IgG tienden a incrementarse y a persistir, en las terneras vacunadas entre los 3 y 8 meses de edad, las IgG tienden a desaparecer alrededor de los seis meses después de la vacunación (Rojas *et al.*, 2001; Acha y Szyfres, 2003).

## **2.10. EPIDEMIOLOGÍA DE BRUCELOSIS BOVINA**

### **2.10.1. Distribución Geográfica**

Mundial. La distribución de las diferentes especies de *Brucella* y sus biovars presenta variaciones geográficas. *B. abortus* es la más ampliamente difundida; *B. melitensis* y *B. suis* tienen una distribución irregular; *B. neotomae* se aisló de ratas del desierto, en Utah, Estados Unidos de América, y su distribución se limita a los focos naturales, sin haberse comprobado la infección en el hombre o en animales domésticos. La infección por *B. canis* se ha comprobado en muchos países de varios continentes, y puede afirmarse que su distribución es mundial. *B. ovis* parece estar distribuida en

todos los países donde la cría de ovinos es importante (Acha y Szyfres, 2003).

### **2.10.2. Hospedadores Naturales**

Si bien *B. abortus* es reconocida como la principal causa de aborto en bovinos, también puede infectar otras especies como ovejas, cabras, perros, caballos, búfalos, animales silvestres como los alces, jabalíes, zorros, renos, camellos y bisontes, y también puede infectar al hombre (Draghi, 2002).

### **2.10.3. Situación de la enfermedad a nivel nacional**

Datos recientes indican que la prevalencia de brucelosis no es mayor al 1% en bovinos lecheros de crianza intensiva y semi-intensiva, pero existen casos esporádicos de abortos por *Brucella sp.* en pequeños criadores no organizados que constituyen una permanente amenaza para el resto de ganaderos (Rivera, 2001).

En la provincia de Canta (Lima), se estimó una prevalencia de 0.21%, sin embargo, en este estudio no se determinó la especie de *Brucella* detectada y se sugiere que la infección en bovinos de este lugar puede deberse a *B. melitensis* debido a las características de explotación mixta con cabras. Por otro lado, ha habido casos confirmados de brucelosis por *B. abortus* en los departamentos de Cajamarca (7), Lambayeque (1), Lima (61), Madre de Dios (3) y Piura (4) en el año 2002 y en el año 2003 los bovinos reactivos fueron de Cajamarca (5), La Libertad (57) y Madre de Dios (6) (Huguet *et al.*, 2005).

#### 2.10.4. Transmisión

##### ➤ Fuentes de infección

Los animales infectados sirven como reservorio de la infección, persistiendo frecuentemente el microorganismo y excretándolo de forma indefinida. La fuente principal de infección en un establo suele ser una hembra infectada introducida en un hato libre que descarga el microorganismo a través de la placenta, feto, fluidos, sangre y secreciones uterinas (Garrido y Garrido, 2002). *B. abortus* se puede excretar por descarga vaginal a partir de los 39 días de exposición. El aborto o el parto de un ternero viable contamina las pasturas y el agua de bebida y esta es una fuente de infección común para el ganado y el hombre (Dragui, 2002). Los terneros pueden infectarse en el útero o cuando son alimentados con leche o calostro de hembras enfermas. Los toros infectados presentan semen de calidad pobre pudiendo excretar el microorganismo por esta vía en el período agudo de la infección (Dragui, 2002), por lo tanto, la inseminación artificial con estos toros puede transmitir y diseminar la enfermedad si no son detectados (Corbel, 2006).

##### ➤ Rutas de Transmisión

La mayoría de los animales se infecta directamente a través de abrasiones de la mucosa oronasal, por ingestión de alimentos contaminados o por inhalación de polvo de los establos con microorganismos que los animales han secretado con la leche o los exudados vaginales después del aborto (Rivers *et al.*, 2006). La principal ruta de

transmisión en las vacas es la oral por la costumbre que tienen de lamer las membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos (Acha y Szyfres, 2003).

➤ **Factores de riesgo**

La severidad de la enfermedad depende de muchos factores tales como vacunación previa, edad, sexo, y factores de manejo como el tamaño y densidad del hato. Los abortos son más prevalentes en los animales no vacunados. En cuanto a la edad, las vaquillonas que se mantienen separadas de las vacas presentan con frecuencia una tasa de infección más baja que estas últimas, ya que por ser sexualmente inmaduras son altamente resistentes a *B. abortus*. Las vaquillonas expuestas a la infección antes del servicio son susceptibles y se infectan, pero por lo general no abortan aunque el riesgo de aborto estará presente cuando ellas maduren debido al fenómeno de latencia de la brucelosis (Acha y Szyfres, 2003).

La susceptibilidad aumenta con el desarrollo sexual y con la preñez por eso las vacas constituyen el grupo más susceptible y en ellas la infección es común y el aborto es frecuente (Dragui, 2002).

Según la extensa literatura existente sobre factores de riesgo para brucelosis los principales factores que contribuyen a aumentar la prevalencia y diseminar la enfermedad incluyen los sistemas y prácticas de manejo en las granjas, la superficie de las instalaciones, la higiene de la granja, el movimiento de ganado, la mezcla y

comercio de animales, el porcentaje de animales que se han inseminado artificialmente, el número de vacas que abortaron el año anterior, la política del propietario respecto a la eliminación de los animales positivos, y compartir las mismas pasturas. Los materiales de abortos poseen un riesgo para infección significativamente alto si no son apropiadamente manejados y descartados. Similarmente, la contaminación ambiental contribuye a una mayor diseminación del microorganismo entre los animales (Dragui, 2002).

➤ **Grupos de riesgo**

La brucelosis en los humanos es un peligro ocupacional. Principalmente es una enfermedad de los animales que es transmitida directamente o indirectamente al hombre. Los trabajadores de lecherías, pastores, veterinarios, trabajadores de mataderos, carniceros, el personal de laboratorios y el personal que maneja animales están particularmente en riesgo. La manipulación de la carcasa de un animal infectado puede suponer una grave exposición (Garrido y Garrido, 2002).

En personas infectadas, los síntomas y signos más típicos son: fiebre y escalofríos, con elevación de la fiebre por las tardes, dolores muy intensos de cabeza, dolores musculares y articulares, estreñimiento, pérdida del apetito, pérdida de peso y debilidad. También se registra un aumento de tamaño del bazo, el hígado y de los ganglios linfáticos. La fiebre intermitente persiste durante unas semanas, y luego los síntomas cesan durante unos días,

para aparecer más tarde, generalmente con picos febriles repetidos y remisiones durante meses (Dellamea, 2005).

#### **2.10.5. Principales medidas de control de Brucelosis a nivel nacional**

En la cuenca lechera de Arequipa se ha desarrollado el Programa de Control de Brucelosis. Desde 1987 se realiza un monitoreo con una frecuencia de 3 veces por año practicando la prueba de anillo en leche. En caso de que hubiera animales reactivos, se toma muestras de sangre de todo el hato y se realizan las pruebas de aglutinación en placa, fijación de complemento y Rosa de Bengala. La baja prevalencia de brucelosis bovina en Arequipa (0.18%) permitió recomendar que para acelerar el programa de control, la vigilancia debería extenderse hacia el ganado no-lechero, a los que se sacrifican en camales y fundamentalmente establecer un estricto control en el ingreso de animales procedentes de áreas no libres de brucelosis. Estas medidas podrán permitir en corto plazo la erradicación de esta enfermedad en la región del sur del país. En la cuenca lechera de Cajamarca, se realizan los mismos Programas de Control y Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina, por lo que la incidencia de estas dos enfermedades es sumamente baja (Escurra, 2001).

#### **2.10.6. Estrategias de erradicación**

En zonas o países con una baja prevalencia se puede proceder a un programa de erradicación que consiste principalmente en aplicar al hato repetidas pruebas serológicas de diagnóstico y eliminar los animales reactivos hasta la desaparición completa de los focos de infección. Este

procedimiento se puede utilizar solo o en combinación con la vacunación de terneras. En estos programas es muy importante el control del tránsito de animales y la vigilancia epidemiológica. Los países o zonas cercanos a la erradicación pueden suspender la vacunación con cualquiera de las cepas utilizadas (Acha y Szyfres, 2003).

La decisión de beneficiar animales positivos a las pruebas diagnósticas de brucelosis es hecha después que son considerados los factores reguladores, económicos y de prevalencia. En la mayoría de los casos, el diagnóstico y beneficio de los animales positivos sólo es exitoso para reducir la incidencia si la prevalencia del hato es muy baja (usualmente menos del 2%). También es improbable que el método de diagnóstico y beneficio de los animales positivos sea exitoso si los animales restantes no son vacunados, especialmente en poblaciones grandes. Son necesarias las pruebas diagnósticas repetidas para reducir la incidencia de brucelosis y para confirmar la erradicación (Radostits *et al.*, 2002).

### 2.11. PREVALENCIA

La prevalencia es una proporción que indica la frecuencia de un evento. En general, se define como la proporción de la población que padece la enfermedad en estudio en un momento dado y se denomina únicamente como prevalencia (p). Como todas las proporciones, no tiene dimensiones y nunca puede tomar valores menores de 0 ó mayores de 1 y se calcula de la siguiente manera (Moreno *et al.*, 2000):

$$p = \frac{\text{Total de positivos existentes en un periodo de tiempo}}{\text{Población total en el periodo de tiempo}} \times 100$$

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización

El presente trabajo de investigación se realizó en el ámbito de las Cuencas Mashcón y Chonta. Políticamente, estas cuencas pertenecen al departamento y provincia de Cajamarca.

La Provincia de Cajamarca presenta las siguientes características geográficas y meteorológicas:

• Altitud	2750 msnm
• Latitud sur	7° 11"
• Temperatura promedio anual	14.75 °C
• Temperatura mínima promedio anual	8.63 °C
• Temperatura máxima promedio anual	21.45 °C
• Precipitación pluvial anual	801.8 mm
• Humedad relativa promedio anual	68.92%

## 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

### 3.2.1. Muestra

- ❖ El presente trabajo se realizó con suero, obtenido de muestras sanguíneas de bovinos hembras y machos a partir de los 6 meses de edad, sin considerar raza.
- ❖ Para el número de muestras se consideró el total de las colectadas en el periodo de ejecución comprendido en los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2016, provenientes de las Cuencas Mashcón y Chonta.

### 3.2.2. Reactivos

- ✦ Antígeno rosa de bengala (Rosa de Bengala ® Laboratorio Provetsur)
- ✦ Antígeno de tubo (Wright)
- ✦ Suero control de referencia positivo
- ✦ Suero control de referencia negativo

### 3.2.3. Material de Laboratorio

- Agujas Descartables (Vacutainer®)
- Tubos al vacío
- Caja térmica
- Formatos para identificación
- Placa de aglutinación
- Gradilla
- Micropipeta
- Puntas para micropipeta

- Dispensador para la dosificación en serie
- Erlenmeyeres
- Probeta
- Placas de microtitulación
- Complemento y diluyente para prueba Fijación de Complemento

#### 3.2.4. Equipo de Laboratorio

- Micropipeta 5-40  $\mu$ l
- Micropipetas 20-200  $\mu$ l
- Micropipetas 10-100  $\mu$ l
- Micropipeta 100-1000  $\mu$ l
- Refrigeradora
- Estufa
- Centrífuga
- Espectrofotómetro (Densidad óptica a 540 nm)
- Aglutinoscopio

#### 3.2.5. Materiales de bioseguridad

- Guantes quirúrgicos
- Botas
- Mameluco
- Gorro
- Mascarilla
- Guardapolvo

### 3.2.6. Otros

- Sogas
- Naricera
- Libreta de apuntes
- Bolígrafos

## 3.3. METODOLOGÍA

### 3.3.1. Obtención y transporte de las muestras

1. Previa coordinación con ganaderos, nos dirigimos a cada predio y se realizó el muestreo.
2. Se realizó la sujeción adecuada de los animales, de tal manera que faciliten el muestreo.
3. Las muestras de sangre se extrajeron de la vena coccígea, utilizando tubos al vacío (vacutainer), debidamente identificados para cada animal, sin anticoagulante en cantidad de 5-8 ml, aproximadamente.
4. Los tubos con las muestras de sangre, se transportó al Laboratorio de SENASA en cajas de tecnopor.

### **3.3.2. Procedimiento en laboratorio para realizar prueba Rosa de Bengala**

1. En Laboratorio de SENASA-Baños del Inca, las muestras se les dejó reposar por 2 horas y se procedió a separar el suero mediante una micropipeta (30 microlitros de suero), para depositarlos en la placa de aglutinación a temperatura ambiente ( $22 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ), según orden indicado en el formato registrado (hoja de campo).
2. Luego se tomó una cantidad de 30 microlitros de antígeno de rosa de bengala y se lo deposita con la muestra de suero extraída.
3. Se homogenizó la muestra de suero con el antígeno de rosa de bengala, hasta producir una zona circular u oval de aproximadamente 2 cm de diámetro.
4. La placa de aglutinación se agitó suavemente, con movimientos circulares durante 4 minutos a temperatura ambiente en un agitador circular o a mano.
5. Se comprobó la aglutinación tan pronto como se completa el período de 4 minutos. Informando como positivo si se presentan grumos de aglutinación o negativo si hay ausencia de éstos.

### **3.3.3. Trabajo de laboratorio para realizar prueba de Fijación de Complemento**

1. En Laboratorio de SENASA - Cajamarca, se separó el suero en cantidad de 1 a 2 ml aproximadamente, en viales con su respectiva identificación.
2. Luego se procedió acondicionar las muestras de suero en una caja térmica con hielo, para su transporte al Laboratorio Nacional del SENASA - Lima, en donde se sometió a la prueba de Fijación de Complemento.
3. En laboratorio Nacional del SENASA – Lima, con el empleo de placas de microtitulación estándar de 96 pocillos de fondo redondeado (en U), la técnica se realiza normalmente del modo siguiente:
  - 3.1. En el pocillo de la primera, segunda y tercera filas, se colocan 25 µl de suero problema inactivado diluido. La segunda fila es un control anticomplemento para cada suero. Se añade a los pocillos de la primera fila 25 µl de tampón FC (controles anticomplemento) para compensar la falta de antígeno. A todos los otros pocillos se añade 25 µl de tampón FC, excepto a los de la segunda fila. A continuación se hacen diluciones dobles seriadas transfiriendo volúmenes de 25 µl de suero de la tercera fila en adelante.
  - 3.2. A cada pocillo, excepto en la primera fila, se añade 25 µl de antígeno, diluido a la concentración de trabajo, y 25 µl de complemento, diluido al número de unidades requerido.

- 3.3. Se añaden a cada pocillo volúmenes de 25  $\mu$ l de complemento diluido hasta el número de unidades requerido.
- 3.4. Se establecen controles con diluyente sólo, suero + complemento + diluyente, antígeno + complemento + diluyente y complemento + diluyente, que contengan en cada caso 75  $\mu$ l de volumen total. En cada serie de pruebas debe probarse un suero control que dé una reacción positiva mínima para comprobar la sensibilidad en las condiciones de la prueba.
- 3.5. Las placas se incuban a 37 °C durante 30 minutos o durante toda la noche a 4°C y se añade a cada pocillo un volumen de SRBCs (concentraciones de eritrocitos) sensibilizados (25 o 50  $\mu$ l dependiendo de la técnica). Las placas se reincuban a 37°C durante 30 minutos.
- 3.6. Los resultados se leen después de centrifugar las placas a 100 rpm durante 10 minutos a 4°C y después dejarlas en reposo a 4°C durante 2-3 horas para permitir que sedimenten las células no lisadas. El grado de hemólisis se compara con estándares que correspondan a una lisis del 0, 25, 50, 75 y 100% de lisis. La ausencia de actividad anticomplementaria se comprueba en la primera fila para cada suero.
- 3.7. **Interpretación de los resultados:** Los sueros con un título equivalente a 20 UIFC/ml o más, se consideran positivos.

### 3.3.4. Determinación de la prevalencia de Brucelosis

Para determinar la prevalencia de Brucelosis bovina, los datos obtenidos se trabajaron bajo la fórmula que a continuación se indica:

$$p = \frac{\text{Total de positivos existentes en un periodo de tiempo}}{\text{Población total en el periodo de tiempo}} \times 100$$

### 3.3.5. Análisis estadístico

Para la contrastación de la hipótesis, se aplicó la prueba de Z de proporciones de una muestra (Anexo 04).

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

En el periodo de tiempo de los meses septiembre, octubre y noviembre del presente año, en las cuencas Mashcón y Chonta se trabajó con un total de 766 sueros de bovinos machos y hembras a partir de los 6 meses de edad (Anexo 03), de los cuales se encontró una muestra positiva a Brucelosis bovina mediante las pruebas de Rosa de Bengala y Fijación de Complemento, teniendo una prevalencia de 0.13 % (Tabla 01). Luego, mediante la prueba de Z de proporciones obtenemos una Z calculada de -2.4185 que es menor al Z crítico de 1.96, por lo que respalda la hipótesis alternativa e indicamos que la prevalencia es menor o igual que el 1% (Anexo 04).

**Tabla 01.** Prevalencia de Brucelosis bovina en cuencas Mashcón y Chonta, Cajamarca 2016.

<b>MUESTRAS</b>	<b>Número</b>	<b>Porcentaje</b>
Positivos	01	0,13%
Negativo	765	99,87%
Total	766	100%

❖ Prevalencia = 0.13%

**Tabla 02.** Registro de predios, número de animales y resultados de pruebas Rosa de bengala y Fijación de complemento en las cuencas Mashcón y Chonta.

<b>CUENCA</b>	<b>N° PREDIOS</b>	<b>N° DE ANIMALES (Mayores de 6 meses)</b>	<b>Negativos a Prueba Rosa de Bengala</b>	<b>Positivos a Prueba Rosa de Bengala y Fijación de complemento</b>
<b>MASHCÓN</b>	15	403	403	0
<b>CHONTA</b>	29	363	362	1
<b>TOTAL</b>	44	766	765	1

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, se encontró un caso positivo a Brucelosis bovina en las cuencas Mashcón y Chonta; resultado que difiere con (Díaz, 2011) que indica, que la prevalencia de brucelosis en la Campiña de Cajamarca experimenta un descenso continuo y nos muestra que desde el año 2004 hasta 2008 no encontró casos positivos para *Brucella abortus*, utilizando las pruebas diagnósticas de rosa de bengala y fijación de complemento, por lo que, deduciríamos que faltaría hacer un seguimiento más continuo en los hatos lecheros para lograr el control y posible erradicación de la brucelosis.

Por su parte, SENASA (2015), indica que según Resolución Jefatural N° 008-2003-AG-SENASA del 20 de enero del 2003, se declara a la provincia de Cajamarca como área libre de Brucelosis bovina, sin embargo en el presente trabajo al encontrarse un animal positivo nos estaría indicando que no se tienen cubiertos los factores de riesgo, vacunación con la cepa 19 que los ganaderos realizaban anteriormente, medidas de bioseguridad, cuarentena, entre otros. Entre los factores de riesgo es importante considerar las medidas que se toman con los animales nuevos que se incorporan en el hato, puesto que en el presente, para explicar el caso positivo el propietario indica que era un animal adquirido.

También, (Meza, 2008) en su investigación titulada “Seroprevalencia de Brucelosis Bovina en el distrito de Puerto Inca – Huánuco” nos indica, que en 3221 muestras procesadas con la prueba de Rosa de Bengala no se encontraron anticuerpos contra *Brucella* en ninguna de las muestras

colectadas, probablemente debido a que tienen un mejor control en los factores de riesgo para la enfermedad, como es el caso del presente trabajo que hubo adquisición de un animal sin información sanitaria.

Analizando los resultados en la prueba de Z de proporciones, nos indica que la prevalencia de brucelosis bovina es menor a 1%. De tal manera, queda aceptada la hipótesis alternativa (Anexo 04).

## **CAPÍTULO VI**

### **CONCLUSIONES**

La prevalencia de brucelosis bovina en las cuencas Mashcón y Chonta, mediante la prueba Rosa de bengala y la comprobación de los positivos con la prueba de Fijación de complemento es de 0.13%.

## CAPÍTULO VII

### LISTA DE REFERENCIAS

Abdala, A. 1998. XVIII Curso Internacional de Producción Lechera. Tuberculosis Bovina. Tomo III. INTA-Argentina.

Acha, P. y Szyfres, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Tercera edición, volumen I (580), pp.136 – 137. Consultado: 10 de junio 2016. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/165488/2/9275315809.pdf>

Aparicio, E. 2013. Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. Introducción Epidemiología de *Brucella abortus*. 32(1), pp. 43–51. Consultado: 10 de junio 2016. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D12404.PDF>

Aréstegui, M., Dominguez, J., Gualtieri, S., Scharovsky, O. 2001. El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. *Vet. Méx.* 33(2170), pp.131–139. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/423/42332206.pdf>

Corbel, M. 1991. Brucelosis. En: Fertilidad e Infertilidad en la Práctica Veterinaria. Laing, J.A., Brinley Morgan, W.J., Wagner, W.C. (eds). 4ta ed. pp. 201-236. Ed. Interamericana. España.

Corbel, M. 2006. Brucellosis in humans and animals. *Who-Fao-Oie*, pp.1–102. Consultado 10 de junio 2016. Disponible en: <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>

Cordero, H. y Huanca, W. 1999. Incidencia de *Brucella abortus* en ganado bovino cruzado en la zona de Pucallpa. *Anales científicos UNALM*. pp. 128 - 134.

Dellamea, A. 2005. Nueva vacuna contra la brucelosis creada argentinos reconocida con el Premio Margni por investigadores. VI, pp.1–8, consultado: 05 de junio 2016. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121205/N120515.pdf>

Díaz, Y. 2011. Prevalencia de tuberculosis y brucelosis de ganado vacuno de la campiña de Cajamarca dentro del periodo 2001-2008. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Cajamarca- Perú.

Draghi, G. 2002. Brucelosis. pp.105–108. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: [http://www.produccionbovina.com/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/enfermedades\\_reproduccion/39-brucelosis.pdf](http://www.produccionbovina.com/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/39-brucelosis.pdf)

Escurra, M. 2001. Situación de la ganadería lechera en Cajamarca. *Revista Investigación Veterinaria del Perú*, 12(2), pp.21–26, consultado: 05 de junio 2016. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a04v12n2.pdf>

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.

Gillespie, S. y Hawkey P. 2006. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2da ed. J.W. & Sons & L.W. Sussex, eds. Inglaterra. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: <https://books.google.com/books?id=Mfaf4twXsP4C&pgis=1>

Huguet, C. 2005. Cuantificación de *Brucella sp.* en bovinos de la provincia de Canta, Lima. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 16 (2): 158-162.

Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012. IV Censo nacional agropecuario, resultados definitivos. IV Censo nacional agropecuario - Cuadros estadísticos. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>

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](http://www.academia.edu/7161595/Isolation_of_brucella_spp_from_milk_of_brucellosis_positive_cows_in_São_Paulo_and_Minas_Gerais_states).

Mathias, L., Chaves, L., Chen, A., Girio, R. 2001. Evolução de títulos sorológicos, nas provas de soroaglutinação em placa, antígeno acidificado tamponado e fixação de complemento, em bezerras Nelore vacinadas aos 18 meses de idade com *Brucella abortus* amostra B 19. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 21(4), pp.139–142. Consultado: 10 de junio 2016 . Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v21n4/7478.pdf>

Meza, C. 2008. Seroprevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca , Huánuco. Tesis para optar el Título de Medico Veterinario. Perú. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Moral, M. 2013. Enfermedades infecciosas | Brucelosis Guía para el equipo de salud. pp.55. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>

Moreno, A., López, S. y Corcho, A. 2000, Principales medidas en epidemiología, vol. 42, No. 4. Consultado: 16 de junio 2016. Disponible en: <http://www.fvet.uba.ar/equinos/241014/principales-medidas-en-epidemiologia.pdf>

Nielsen, K. 2002. Diagnostic of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol*, pp. 90:447-459.

Piedra, J., Tapia, E. y López, N. 2012. Determinación de lactancia y producción lechera de ganado Holstein y Brown Swiss en el valle de Cajamarca- Perú. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria*. pp.22. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: [http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Determinacion\\_curva\\_tapia.pdf](http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Determinacion_curva_tapia.pdf).

Pope, M. 2010. Análisis del sector lacteo peruano. pp.33. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: [http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/02/analisis\\_sector\\_lacteo\\_peruano.pdf](http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/02/analisis_sector_lacteo_peruano.pdf)

Radostits, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff. K. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9<sup>a</sup> ed. España: McGraw-Hill Interamericana, pp 1025-1042.

Rivera, H. 2001. Causas frecuentes de aborto bovino. *Rev Inv Vet Perú*. 12(2). pp.117–122. Consultado: 15 de junio 2016. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a14v12n2>

Rivers, R., Andrews, E., Gonzales, A., Donoso, G., Oñate, A. 2006. *Brucella abortus*: immunity, vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 38. pp.7–18. Consultado: 18 de junio 2016. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/amv/v38n1/Art02.pdf>

Saldarriaga, O., Ossa, J., Rugeles, M.T. 2002. Respuesta inmune y estrategias de evasión durante la infección con *Brucella spp* . *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 15(38), pp.180–187. Consultado: 03 de junio 2016. Disponible en: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/85/84>

Samartino, L. 2002. Brucellosis in Argentina. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4). pp.71–80. Consultado: 30 de mayo 2016. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/11051448\\_Brucellosis\\_in\\_Argentina](https://www.researchgate.net/publication/11051448_Brucellosis_in_Argentina)

SENASA. 2004. Evaluación técnica 1999. Dirección General de Sanidad. Dirección de Programas Zoonosarios. Lima, Perú.

SENASA. 2015. Programa de control y erradicación de tuberculosis y brucelosis bovina, [Internet], [14 de junio 2016] Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/normas-sanitarias-de-brucelosis-uberculosis-sanidad-porcina-y-otros/>

Seleem, M., Boyle S. Sriranganathan N. 2008. *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes. *Veterinary Microbiology* 129, pp. 1-14.

Velasco, Z., Yamasaki, M. 2002. Bacterias de interés veterinario. *Medicina Veterinaria*. 19(1). pp.1–11. Consultado: 01 de junio 2016. Disponible en: <https://mariacristinavasquez.files.wordpress.com/2009/07/unidad-5-9-2bacterias-4.pdf>

Zapata, F. 1998. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en el Centro poblado menor de Obenteni-Gran Pajonal mediante la prueba de ELISA. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima.

ANEXO

Anexo 01. Imágenes que registran la localización del trabajo de tesis, material biológico y metodología utilizada en campo.

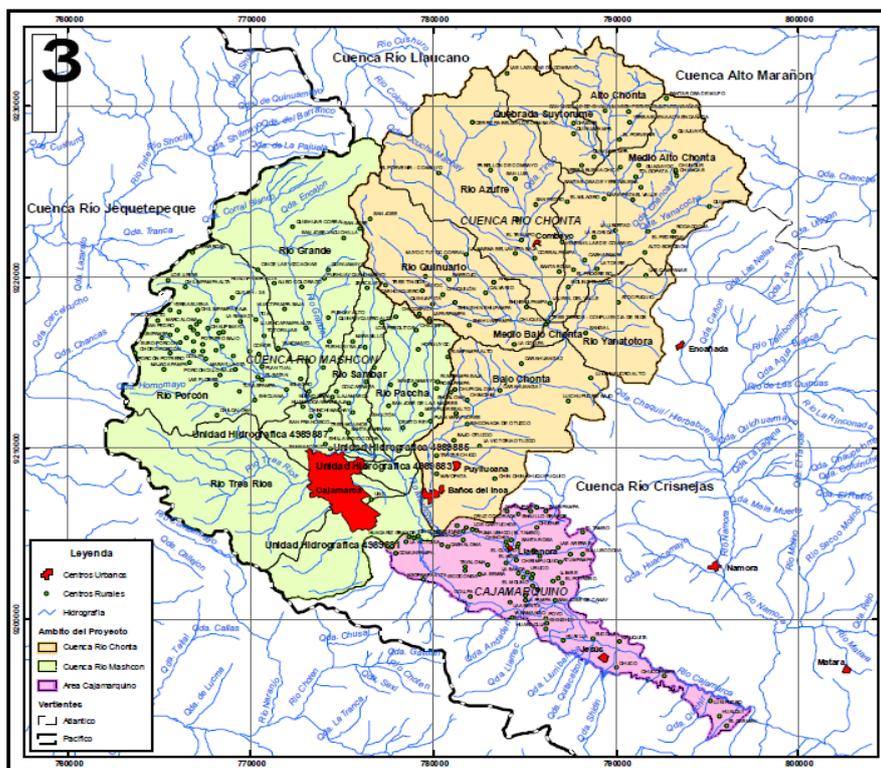


Fig. 01. Localización: En el ámbito de las Cuencas Mashcón y Chonta.



Fig. 02. Material biológico: Bovinos hembras y machos a partir de los 6 meses de edad, sin considerar raza.



Fig. 03.  
Sujeción  
adecuada  
de los  
animales de  
tal manera  
que faciliten  
la toma de  
muestras.



Fig. 04. Extracción de muestras de sangre de la vena coccígea utilizando tubos al vacío (sistema vacutainer), debidamente identificados para cada animal, sin anticoagulante en cantidad de 5 - 8 ml aproximadamente.

**Anexo 02. Trabajo en laboratorio de SENASA, imágenes que muestran la ejecución de la prueba tamiz Rosa de bengala.**

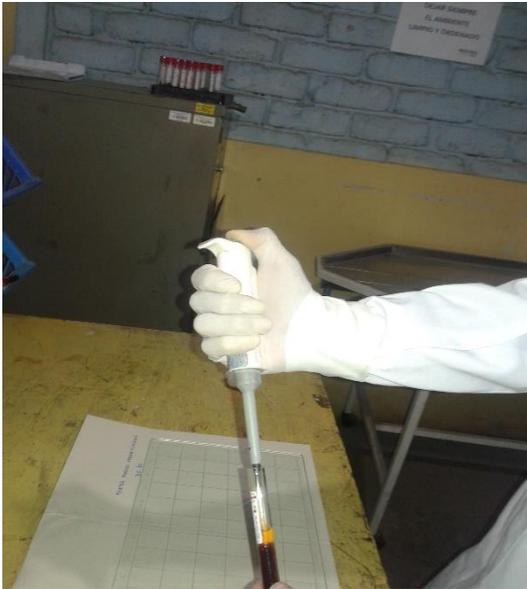


Fig. 05. Separando el suero mediante una micropipeta (30 microlitros de suero).



Fig. 06. Dejando el suero en la placa de aglutinación a temperatura ambiente ( $22 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ).



Fig. 07. Añadiendo antígeno de rosa de bengala a la muestra de suero extraída.

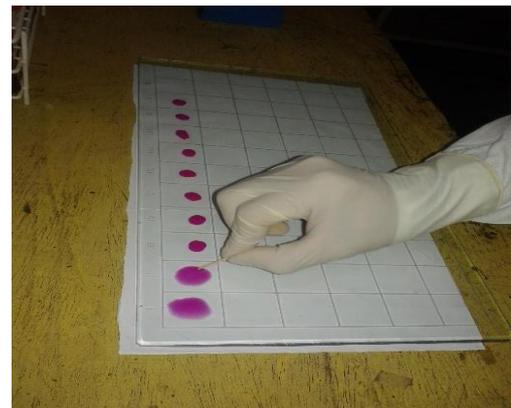


Fig. 08. Homogenizando la muestra de suero con el antígeno Rosa de bengala, hasta producir una zona circular u oval de aproximadamente 2 cm de diámetro.



Fig. 09. Agitando la placa de aglutinación suavemente con movimientos circulares durante 4 minutos a temperatura ambiente en un agitador circular o a mano.



Fig. 10. Comprobando la aglutinación tan pronto como se completa el período de 4 minutos.



Fig. 11. Resultado positivo, se presentan grumos de aglutinación.



Fig. 12. Resultado negativo, ausencia de grumos de aglutinación.

**Anexo 03.** Registro de predios, número de animales y resultados para las pruebas Rosa de bengala y Fijación de complemento en las cuencas Mashcón y Chonta.

<b>CUENCA</b>	<b>PREDIO</b>	<b>N° DE ANIMALES (Mayores de 6 meses)</b>	<b>Negativos a prueba Rosa de Bengala</b>	<b>Positivos a prueba Rosa de Bengala y Fijación de Complemento</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>
<b>MASHCÓN</b>	1	4	4	0	Cajamarca
	2	49	49	0	Cajamarca
	3	3	3	0	Cajamarca
	4	4	4	0	Cajamarca
	5	3	3	0	Cajamarca
	6	4	4	0	Cajamarca
	7	4	4	0	Cajamarca
	8	33	33	0	Cajamarca
	9	43	43	0	Cajamarca.
	10	37	37	0	Cajamarca
	11	22	22	0	Cajamarca
	12	46	46	0	Cajamarca
	13	5	5	0	Cajamarca
	14	28	28	0	Cajamarca.
	15	118	118	0	Cajamarca
<b>CHONTA</b>	16	21	21	0	Baños del Inca
	17	8	8	0	Baños del Inca
	18	30	30	0	Baños del Inca
	19	18	18	0	Baños del Inca.
	20	15	14	1	Baños del Inca
	21	9	9	0	Baños del Inca.
	22	22	22	0	Baños del Inca.

23	3	3	0	Baños del Inca
24	4	4	0	Baños del Inca
25	37	37	0	Baños del Inca
26	19	19	0	Baños del Inca
27	13	13	0	Baños del Inca
28	4	4	0	Baños del Inca
29	21	21	0	Baños del Inca
30	2	2	0	Baños del Inca
31	3	3	0	Baños del Inca
32	3	3	0	Baños del Inca
33	5	5	0	Baños del Inca
34	14	14	0	Baños del Inca
35	6	6	0	Encañada
36	12	12	0	Encañada
37	4	4	0	Encañada
38	3	3	0	Encañada
39	3	3	0	Encañada
40	3	3	0	Encañada
41	24	24	0	Encañada
42	27	27	0	Encañada
43	22	22	0	Encañada
44	8	8	0	Encañada
<b>TOTAL</b>		<b>766</b>	<b>765</b>	<b>1</b>

**Anexo 04. Análisis estadístico: Prueba de Z de proporciones aplicados al resultado de prevalencia de brucelosis bovina en relación a la hipótesis.**

**Hipótesis planteada:** La prevalencia de brucelosis bovina en las Cuencas Mashcón y Chonta es mayor al 1%.

**Hipótesis alternativa:** La prevalencia de brucelosis bovina en las Cuencas Mashcón y Chonta es menor al 1%.

Prevalencia de brucelosis en cuencas Mashcón y Chonta.

	Número de muestras	Prevalencia
Positivos	01	0,13%
Negativo	765	99,86%
Total	766	100%

Fórmula de Z de Proporciones:

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = 1 (Ocurrencias)

n = 766 (observaciones)

$\frac{x}{n}$  = proporción de la muestra

$p_0 = 0.01$ (proporción propuesta)

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$  = desviación estándar de la proporción

**Hipótesis:**

Hipótesis planteada  $>0,01$

Hipótesis alternativa  $< 0,01$

$$Z = - 2.4185$$

Al comparar con el valor de Z de tabla 1,96 se comprueba que 1,96 es mayor a -2.4185, de tal manera que aceptamos la hipótesis alternativa e indicamos que la prevalencia es menor que 01