

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Cuantificación de brucelosis bovina en establos lecheros  
de crianza familiar en la Campiña de Moche**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PAULO CÉSAR ESPINOZA LEÓN**

**TRUJILLO, PERÚ**

**2018**

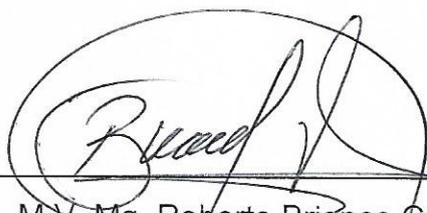
La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



---

M.V. Mg. Juan Valdivia Pezantes

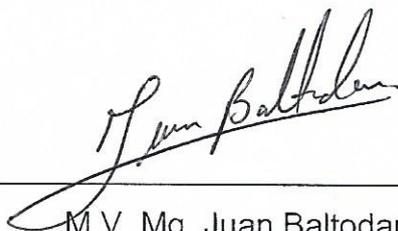
PRESIDENTE



---

M.V. Mg. Roberto Briones Cabellos

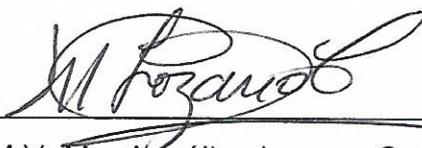
SECRETARIO



---

M.V. Mg. Juan Baltodano Tello

VOCAL



---

M.V. Mg. Angélica Lozano Castro

ASESOR

## **DEDICATORIA**

Mi tesis se la dedico con mucho amor y cariño a mis padres, César y Sonia, los autores de mi vida; por guiarme, cuidarme, entenderme y aconsejarme en el transcurso de mis días. A ustedes que me inculcaron valores desde pequeño y con mucho sacrificio y esfuerzo han hecho la persona que soy ahora. Ustedes fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentando en mí las bases de responsabilidad y deseo de superación. Son mi orgullo.

A mis hermanos, Mara, Cristian y Sheyla, por sus consejos y apoyo que contribuyeron a mi formación, por brindarme ese cariño sincero para seguir adelante y nunca desmayar, gracias por creer en mí.

A ti, por llegar en el momento indicado a mi vida y sacar lo mejor de mí, enseñándome las más grandes lecciones que no hubiera aprendido con nadie más y ser parte de la persona que me he convertido hoy, has vivido junto a mí el proceso de mis estudios y has sido una gran motivación para superarme. Gracias por tu apoyo, comprensión y la confianza que me has dado en momentos difíciles.

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres, por su comprensión, motivación y apoyo que me han brindado para lograr todas y cada una de mis metas, así como también me impulsan a lograr mis anhelos y sueños.

De una manera especial y sincera a mi asesora la Dra. Angélica Lozano, por confiar en mí y animarme a superarme constantemente. Ayudándome a realizar esta tesis bajo su dirección, experiencia y consejos; asesorándome generosa y amablemente en cada momento del tiempo dedicado para hacer posible su elaboración.

A la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por enseñarme un nuevo mundo en la medicina animal.

A todos los profesores y compañeros de carrera, que ahora son mis colegas, que compartieron tantos momentos muy especiales. He aprendido y disfrutado con ustedes mis horas de estudio.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
CARÁTULA .....	i
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
ÍNDICE GENERAL .....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA.....	3
2.1. Historia.....	3
2.1.1. Antecedentes en el Perú .....	5
2.1.2. Importancia económica de la brucelosis bovina .....	7
2.2. Generalidades .....	7
2.3. Factores de riesgo .....	9
2.4. Patogenia.....	9
2.5. Transmisión .....	11
2.6. Técnicas de diagnóstico .....	12
2.6.1. Métodos directos.....	12
2.6.2. Métodos Indirectos.....	13
2.7. Prevención.....	17
2.7.1. Vacunación .....	17
2.7.2. Higiene.....	18
2.7.3. Cuarentena .....	19
2.8. Control y erradicación de la brucelosis bovina.....	19
2.9. Legislación sobre brucelosis bovina .....	22

III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
	3.1. Lugar de ejecución .....	25
	3.2. Animales .....	25
	3.3. Materiales .....	25
	3.4. Equipo.....	25
	3.5. Reactivos .....	26
	3.6. Población y muestra .....	26
	3.7. Medición de variables .....	26
	3.8. Metodología .....	26
	3.9. Análisis estadístico .....	28
IV.	RESULTADOS.....	29
V.	DISCUSIONES .....	32
VI.	CONCLUSIONES .....	35
VII.	RECOMENDACIONES .....	36
VIII.	BIBLIOGRAFIA .....	37
IX.	ANEXOS .....	44

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1. Prevalencia de brucelosis bovina en establos lecheros de crianza familiar, Campiña de Moche, 2017. ....	29
Cuadro N° 2. Prevalencia de brucelosis bovina por categoría en vacunos de leche de crianza familiar, Campiña de Moche, 2017.....	30
Cuadro N° 3. Prevalencia de brucelosis bovina por establo en vacunos de leche de crianza familiar en la Campiña de Moche, 2017.....	31

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina.....	44
Anexo 2.	Mapa referencial sobre ubicación de la Campiña de Moche ..	48
Anexo 3.	Hoja de Registro Sanitario .....	49
Anexo 4.	Recolección de muestras (punción en vena coxígea y extracción de sangre).....	50
Anexo 5.	Muestras recolectadas .....	51
Anexo 6.	Viales con suero sanguíneo .....	51
Anexo 7.	Extracción de suero con pipeta automática.....	52
Anexo 8.	Extracción de antígeno.....	52
Anexo 9.	Colocación de antígeno y suero sanguíneo sobre placa del aglutinoscopio .....	53
Anexo 10.	Antígeno y suero combinados .....	53
Anexo 11.	Movimientos rotatorios sobre placa de vidrio .....	54
Anexo 12.	Lectura de muestras.....	54
Anexo 13.	Resultados sin aglutinación (negativos) .....	55

## **RESUMEN**

La brucelosis es una enfermedad que se encuentran bajo un programa nacional de control y erradicación en el Perú. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de brucelosis bovina en establecimientos lecheros de crianza familiar, en la campiña del distrito de Moche, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad. Se analizaron 114 bovinos en edad reproductiva pertenecientes a 12 establos, los que no pertenecen al Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina, a cada uno se le extrajo una muestra de sangre de la vena coccígea, las mismas que fueron transportadas a la Universidad Privada Antenor Orrego, al laboratorio de Medicina Veterinaria y Zootecnia para ser centrifugados y extraer el suero sanguíneo para su análisis mediante la prueba de rosa de bengala. El estudio tuvo una prevalencia del 0%, donde que no se encontraron animales reactores positivos. Palabra Clave: Brucelosis bovina, prueba de rosa de bengala, prevalencia.

## **ABSTRACT**

The brucellosis is a disease that is under a national control and eradication program in Peru. The objective of the study was to evaluate the presence of bovine brucellosis in dairy farms of family breeding, in the countryside of the district of Moche, province of Trujillo, department of La Libertad. We analyzed 114 cattle of reproductive age belonging to 12 stables, those that do not belong to the Program for the Control and Eradication of Bovine Brucellosis, each one had a blood sample taken from the coccygeal vein, which were transported to the University Private Antenor Orrego, to the laboratory of Veterinary Medicine and Zootechnics to be centrifuged and to extract the blood serum for its analysis through the Rose Bengal test. The study had a prevalence of 0%, where no positive reactors were found. Key word: Bovine brucellosis, Rose Bengal test, prevalence.

## I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis bovina es una zoonosis producida principalmente por *Brucella abortus*, una bacteria intracelular facultativa. La enfermedad se caracteriza por producir abortos, retención de placenta, orquitis, epididimitis e infertilidad. Sin embargo, estos signos clínicos no son patognomónicos y el diagnóstico depende de la demostración de *Brucella abortus* en el animal afectado, ya sea por aislamiento de la bacteria o por la detección de anticuerpos o material genético (Rodríguez, 1998).

A pesar de los esfuerzos realizados en la lucha contra esta enfermedad, mediante programas de vacunación y campañas de control y erradicación, la brucelosis continúa siendo prevalente en diversas áreas del mundo (Ramírez y otros, 1992). 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).

La brucelosis bovina está muy difundida en el país, especialmente en las cuencas lecheras de Arequipa, Trujillo, Cajamarca y Lima, en donde el sistema de explotación es estabulado o semi estabulado. Los últimos reportes realizados por el SENASA en el año 2000, denotan una prevalencia de 0.06% en los departamentos de Lima, Arequipa y Cajamarca (SENASA, 2003). Asimismo, la prevalencia de la enfermedad en los animales está correlacionada con la infección en humanos, lo cual explica la prioridad otorgada al control de esta infección en las actividades de los servicios de salud animal (Acha y Szyfres, 2003).

Por otro lado, la brucelosis en los humanos es un peligro ocupacional, tal como los trabajadores de lecherías, pastores, veterinarios, trabajadores de mataderos, carniceros, el personal de laboratorios y el personal que maneja animales, están particularmente en riesgo. Asimismo, la manipulación de la carcasa de un animal infectado puede suponer una grave exposición (Deqiu y otros, 2002).

Debido a la relevancia de esta enfermedad por afectar tanto la salud animal como la salud pública, se realizan grandes esfuerzos a nivel mundial para lograr su control y prevención, siendo una enfermedad de comunicación obligatoria (Herrera y otros, 2007).

Por tal motivo el objetivo del presente estudio es cuantificar los casos de brucelosis bovina en establos lecheros, de crianza familiar, en la campiña de Moche; información que nos brindará una mejor perspectiva para la implementación de métodos o medidas coherentes con miras al mayor progreso en la prevención y la futura erradicación de la brucelosis en nuestra localidad o país, y de igual medida conseguir y lograr mayor beneficio económico y una mejor protección de la salud pública.

## II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

### 2.1. Historia

En la isla de Malta, Davis Bruce, en el año 1886, aísla por primera vez del bazo de un soldado muerto con la denominación “Fiebre de mediterráneo” el agente etiológico, que en su honor fue después denominada *Brucella melitensis*. Más tarde el mismo microorganismo fue aislado por Zamit en el año de 1905 de la sangre de la cabra, juzgado entonces como el único animal reservorio de la enfermedad humana (Hagan, 1970).

Bang en el año 1897, en Dinamarca, aisló de la secreción uterina de una vaca que había abortado, un microorganismo de tamaño pequeño, Gram negativo y forma bacilar, al que se le atribuyó su papel etiológico en el aborto contagioso de los bovinos. Posteriormente Bang logró reproducir la enfermedad (Szyfres, 1974).

Investigaciones realizadas por Delgado, L. y Vega, M. (1985), sobre brucelosis en el Camal Municipal de Cuenca, por un lapso de 103 días solo en hembras con problemas reproductivos, provenientes de la provincia de Cañar de tres cantones Azogues, Biblián y el Cantón Cañar: determinaron que en el Cantón Cañar de 147 muestras el 6.12% resultaron sospechosas a la brucelosis, siendo el porcentaje más alto encontrado con relación al Cantón Azogues con 2.86% y el cantón Biblián con 3.19%.

En la investigación sobre la determinación de la Incidencia de brucelosis (*Brucella abortus*) por Seroaglutinación y cultivo en cinco Fincas Ganaderas del Cantón Cañar registra incidencia en todas las fincas con 26.17% por seroaglutinación y por cultivo registrándose el 4.02%. La mayor incidencia de Brucelosis a nivel de las cinco fincas lo

presentan las vacas en producción seguido por las vacas secas, vaconas vientre, en menor proporción los reproductores (Neira, 1997).

La obtención del estado libre de brucelosis en Gran Bretaña desde 1985 fue debida a la continuidad de las medidas tomadas para reducir el riesgo de la enfermedad. Estas medidas incluyeron el análisis sanguíneo periódico de los rebaños de carne, toros lecheros y otros animales que no eran evaluados por las muestras en tanque de leche, a intervalos de 2 años (McGiven y otros, 2008).

En la actualidad Japón no tiene brucelosis bovina, sin embargo, realiza pruebas serológicas a los bovinos como parte de su sistema nacional de vigilancia. Todas las vacas lecheras y toros reproductores son analizados al menos una vez cada 5 años. Este sistema de vigilancia es obligatorio para todos los bovinos así que es asumido que la tasa de ejecución de este tipo de vigilancia es del 100%. Adicionalmente, se realiza una vigilancia de leche en tanque con intervalos de 6, 12 y 24 meses dependiendo de la zona (Yamamoto, 2008).

Un tipo parecido de vigilancia epidemiológica es realizado en Irlanda del Norte, pero con el análisis mensual de leche en tanque por medio de la prueba de ELISA. Además, los propietarios están obligados a reportar los abortos en bovinos a la Oficina Veterinaria local para las investigaciones (Stringer, 2008).

Finalmente tenemos que en la Ciudad del Cantón de Zaruma se llevó a cabo un estudio de investigación haciendo uso de una prueba denominada Rosa bengala a 500 animales criollos de diferentes edades, sexo y raza de 25 pequeñas ganaderías lecheras, cuyos resultados mostraron un índice de prevalencia de brucelosis bovina del 0% (Tituana, 2014).

### **2.1.1. Antecedentes en el Perú**

Che Moya (1959) en la provincia de Pacasmayo con 600 vacunos de media sangre Holstein y criollo de 6 meses a 5 años, usando la Prueba rápida en Placa, encontró que el mayor porcentaje de reactores positivos corresponden a la categoría de más de 5 años; encontrándose una incidencia casi nula en la edad de 6 meses hasta 2 años.

Estudios realizados por Peláez (1960) sobre prevalencia de brucelosis en la colonización de Tournavista, Pucallpa, encontró que de 444 animales (402 hembras y 42 machos) cuyas edades fluctúan de 1 a 8 años, usando la Prueba rápida en Placa, que los reactantes positivos corresponden a vacunos mayores de 2 años de edad fue de 23.8% y menores de 2 años 6.62%; el porcentaje de machos reactantes fue de 14.28% y el de hembras 32.02%.

Zuiko (1971) trabajando con 1 044 animales criollos; Brown swiss y cruces de estas en las zonas de Tingo María, encontró con la Prueba rápida en Placa que, de 144 machos, 139 fueron negativos (96.52%) y 5 sospechosos (3.47%), no se registraron casos positivos y de 900 hembras resultaron 794 (88.22%) negativas, 96 sospechosas (10.66%) y 10 positivas (1.11%).

Un estudio de incidencias de brucelosis en el distrito de Tarma - Junín, en donde se aplicó la prueba de Rosa de Bengala, sobre un total de 344 muestras de animales, el cual se obtuvo como resultado que el 99% de esta población en estudio no presentó índice de prevalencia debido al estricto control de vigilancia epidemiológica y la implementación de un programa de control y erradicación de brucelosis bovina en el distrito de Tarma con el fin de mantener al área libre el área (Ventocilla y otros, 2009).

Trabajos realizados durante los años 2007 y 2008 sobre la prevalencia de brucelosis bovina en 24 sectores del distrito de Virú,

provincia de Virú del departamento de La Libertad (Censo del MINAG), se registró para el año de 2007, 60 animales positivos; y en el distrito de Moche, 0 positivos. En el año 2008 en la provincia de Virú, 223 casos positivos y en el distrito de Moche, 164 animales positivos (los casos positivos afectaron a un solo productor en el distrito de Moche) (Espinoza, 2009).

Eslava (2010) refiere que “La alta prevalencia de brucelosis bovina desde el año 2001 al 2009 en los distritos de Virú y Moche se debió, a la entrada de 1200 vacunos de carne de raza Cebú, infectados, al distritito de Virú, en el año 2001, precedentes del departamento de Piura, luego fue diseminada por técnicos y profesionales que atendían paralelamente a este establo y a pequeños ganaderos lecheros de Virú y Chao, así también por la comercialización inescrupulosa de ganado en este mismo distrito y aledaños, sumando a estos eventos, en el año 2008 la compra de un establo con una población de 300 animales procedentes de la provincia de Casma, que también propició la diseminación de la enfermedad en el distrito de Virú. En el año 2009 se pudo controlar la enfermedad, con el sacrificio de las vacas rectoras positivas; todo el ganado infectado con *Brucella abortus* del establo antes mencionado, se trasladó al camal de Lima. En el año 2010 en Virú, no se reportó incidencias (casos nuevos), pero si prevalencia, de los establos que aún no han sacrificado sus animales”.

Así también, datos reportados a la fecha por el SENASA (2017), indica que, en el año 2009, en el distrito de Paiján, se reportaron 125 vacas positivas a brucelosis mediante la prueba de rosa de bengala, las cuales fueron derivadas al centro de beneficio. Al siguiente año la prueba arroja 60 vacas positivas. A partir de esa fecha el establo entró en un programa de erradicación de brucelosis.

Respecto al distrito de Moche, según datos reportados por el SENASA (2017), indica que, en el año 2011, se encontró 7 casos positivo en un solo establo, los que fueron erradicados, al siguiente año (2012) y hasta la fecha no se han reportado casos positivos a brucelosis bovina.

### **2.1.2. Importancia económica de la brucelosis bovina**

La brucelosis es una enfermedad endémica en muchos países. La Organización Internacional de Epizootias (OIE) considera a la brucelosis como una de las enfermedades transmisibles de mayor importancia en bovinos debido a que afecta la sanidad y la producción de leche y además tiene una importante repercusión económica en el comercio internacional de animales y productos (Aréstegui, 2001).

Asimismo, la brucelosis ocasiona significativas pérdidas monetarias debido a que provoca abortos, metritis, esterilidad temporal o infertilidad que alarga el período entre lactancias y el nacimiento de animales débiles, lo que interrumpe el programa reproductor (Garrido y otros, 2002).

Por otro lado, esta enfermedad constituye un importante problema para la salud pública ya que la mayoría de las bacterias del género son patógenas para el hombre, quien adquiere la infección por el consumo leche no pasteurizada y sus derivados, o por el contacto directo con material infeccioso (Estein, 2006).

## **2.2. Generalidades**

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, de origen bacteriano, Gran positiva, no presentan cápsula ni esporas y carecen de flagelos; son aeróbicas e inmóviles que afecta a los bovinos alterando su reproducción. Se caracteriza fundamentalmente por producir abortos,

partos prematuros, crías débiles, infertilidad temporal y merma en la producción de leche (Rodríguez, 1998).

Desde el punto de vista zoonótico, la brucelosis es importante por sus repercusiones negativas en las condiciones de salud de los trabajadores vinculados con el manejo de hatos ganaderos y con el faenamiento del ganado, al entrar en contacto con animales infectados y para la población que consume productos contaminados (leche y derivados) (Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del agro 2009).

Vallejo, A. y Berbenni, P. (1986) manifiestan que los bovinos se consideran reactores positivos a la Brucelosis, en los siguientes casos:

Bovinos de 6 meses no vacunados o vacunados después de esta edad, cuando su suero en la Prueba de aglutinación en Placa de una intensidad de reacción completa a la dilución de 1:100 o más. Bovinos mayores de 20 meses y que fueron correctamente vacunados a la edad de 3 hasta 6 meses, si sus sueros tienen una intensidad de reacción completa de 1:200 o más.

Se consideran bovinos reactores sospechosos a la brucelosis, en los siguientes casos:

Animales no vacunados o vacunados después de 6 meses de edad, cuyos sueros den una intensidad de reacción incompleta de 1:50, aglutinación completa de 1:50 y aglutinación incompleta en 1:100. Bovinos de 20 meses o más, vacunados correctamente a la edad de 3 a 6 meses, cuyos sueros den una intensidad de reacción incompleta en 1:100, aglutinación completa de 1:100, aglutinación incompleta de 1:20 (Vallejo y otros, 1986).

A la brucelosis también se le conoce con los siguientes nombres: Melitococia Fiebre Ondulante, Fiebre de Malta, Fiebre del Mediterráneo

(en el hombre), Aborto Contagioso, Aborto Infeccioso, Aborto Epizoótico (en animales), enfermedad de Bang (en bovinos) (Blood y otros, 1992).

### **2.3. Factores de riesgo**

La prevalencia de esta enfermedad se ve influenciada por las condiciones socioeconómicas de cada país, región o localidad. En países en vías de desarrollo, en los cuales se utiliza un sistema tradicional de manejo de los animales y los sistemas sanitarios son deficientes o inexistentes, esta enfermedad afecta a la población en general, en tanto que, en países desarrollados, esta enfermedad tiene un carácter profesional (Paredes, 2012).

De acuerdo con Paredes (2012) entre las profesiones que poseen alto riesgo de contaminación, están las relacionadas con el campo o agro, médicos veterinarios, ingenieros agrónomos, trabajadores agrícolas, trabajadores de camales, así como el personal de laboratorio.

La infección se produce a cualquier edad y persiste solo en animales sexualmente maduros, una pequeña porción de infecciones intrauterinas persiste en terneras inmunes pasivamente, estos animales no deben utilizarse como reproductores. Cuando más avanzada sea la gestación en el momento de la exposición, mayor es el riesgo de infección (Maldonado, 2007).

### **2.4. Patogenia**

Bierstein y otros (1994) indican que poco después de haber penetrado en el organismo por cualquier vía, los microorganismos son englobados por las células fagocitarias en cuyo interior sobreviven, se multiplican y son transportadas a los ganglios linfáticos regionales. Allí los microorganismos siguen multiplicándose tras su diseminación hematológica, se localizan en los macrófagos y, si la hembra está preñada,

en el tracto reproductor. La brucelosis es principalmente una enfermedad propia de los animales maduros desde el punto de vista sexual.

Entre la tercera y la quinta semana se produce la bacteriemia, la cual puede durar de 1 a 4 semanas, por lo general son sólo 2 semanas. Luego las bacterias se localizan en el tracto reproductivo en el útero y placenta (si hay preñez) y los ganglios adyacentes de estos órganos. Si el animal no está preñado la bacteria se ubica en ubre y sus ganglios adyacentes (Arriaza, 2009).

La *Brucella abortus* penetra en células epiteliales del corion y se reproduce causando placentitis, también produce endometritis con ulceraciones en la capa epitelial que reviste al útero. Este microorganismo induce una respuesta inflamatoria en las membranas, este proceso obstruye la circulación fetal y produce cierto grado de necrosis en los cotiledones, estos eventos explican el aborto. Las lesiones en el feto incluyen congestión pulmonar, acompañadas de hemorragias en el epicardio y cápsula esplénica, pudiendo aislar del feto cultivos puros del tubo digestivo y de los pulmones. El aborto puede producirse en los últimos meses de gestación. Posterior al parto o al aborto, el microorganismo no persiste mucho tiempo, permaneciendo algunos días hasta que desaparece (Gasque, 2012).

El microorganismo sobrevive en el sistema retículo endotelial de la ubre, por lo cual secreta a través de la leche, de ahí la importancia de la detección de animales infectados, ya que en salud pública esta enfermedad es considerada una de las principales zoonosis. También se puede encontrar a la bacteria en higromas de las articulaciones, así como en sinovitis, sangre (fase bacteriemia) del epidídimo y del testículo en los cuales causa severa inflamación, así como en la vesícula seminal, provocando esterilidad cuando afecta a ambos testículos (Gasque, 2012).

## 2.5. Transmisión

En los animales, las hembras que abortan, los productos de los abortos (concentraciones  $1.7 \times 10^9$  col/g de placenta) y el exudado vaginal que eliminan tras haber abortado, son las principales fuentes de infección y explican la amplia diseminación de los microorganismos. El contacto directo con estos productos y/o con el medio ambiente contaminado como consecuencia de los abortos es la forma de transmisión más corriente. También puede tener lugar la transmisión directa, puede transmitir vía genital, conjuntiva, a través de la piel y por inhalación (Biberstein, 1994).

Según England y otros (2004) refieren que los terneros pueden infectarse en el útero o cuando son alimentados con leche o calostro de hembras enfermas.

Samartino (2003) plantea que la forma principal de contagio es por vía digestiva, que se produce cuando los animales lamen descargas vaginales, membranas fetales, fetos abortados, terneros recién nacidos y genitales de otros animales, y que están contaminados con *Brucella*.

La brucelosis se adquiere por la ingestión de los alimentos contaminados. Los gérmenes pueden pasar a través de las mucosas. Basta colocar unas gotas de suspensión de *Brucella abortus* en el saco conjuntival, para que se produzca infección en las vacas rápidamente. Se sabe que puede pasar rápidamente a través de soluciones de continuidad de la piel, y también se cree que pasa por la piel intacta. Ha demostrado que las garrapatas, chinches y pulgas pueden estar infectadas con las tres especies de *Brucella sp.* Solamente las garrapatas pueden infestar mediante la picadura y transmitir la infección a sus huevos y a sus larvas. Las brucelas son parásitos obligados, pero pueden vivir fuera del cuerpo de los animales durante períodos considerables. Por esta razón, los animales infectados son el principal peligro de infección. Los alimentos y

bebidas contaminadas por animales enfermos son siempre peligrosos (Parcker, 1980).

Bruner y Gillespie (1993) sostienen que los vacunos adquieren la infección a través de las mucosas oculares y esto puede ser una vía importante en la propagación de la enfermedad.

La ingestión de leche cruda y sus derivados en zonas endémicas, es uno de los más comunes modos de transmisión de la enfermedad. El queso fresco, no curado, de procedencia casera y en consecuencia no sometido a control sanitario, es el principal vehículo de esta forma de contagio (Vazquez y otros, 1994).

## **2.6. Técnicas de diagnóstico**

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).

Las pruebas diagnósticas en generales 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).

### **2.6.1. Métodos directos**

Se basan en evidenciar la presencia de la bacteria o de sus componentes en los tejidos del individuo. Las preparaciones teñidas por Ziehl Neelsen Modificado (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 (Dragui, 2002).

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 otro, 2003).

### **2.6.2. Métodos Indirectos**

Las pruebas serológicas son utilizadas para la identificación de rebaños infectados o de animales individuales en los planes de erradicación (Quinn, 2002).

Dentro de las pruebas serológicas utilizadas en el diagnóstico de brucelosis en bovinos se encuentran:

#### **A. Aglutinación lenta en tubo de Wright (Standard Agglutination Test - SAT)**

Es la más antigua (1897) y la más utilizada aún para el diagnóstico de brucelosis animal y humana. Es una prueba semi-cuantitativa que tiene una baja especificidad y sensibilidad y puede conducir a resultados negativos y reacción cruzada con bacterias Gram negativas (Garrido y otros, 2002).

Para realizar esta prueba se ejecutan simultáneamente las pruebas de aglutinación en tubo con y sin tratamiento del suero con 2-mercaptuetanol (2-ME). La diferencia de título obtenida entre ambas pruebas corresponde a los anticuerpos IgM. Para esta prueba se utiliza una suspensión de *Brucella abortus* 1119-3 al 4,5% como antígeno y se detecta anticuerpos IgG e IgM. El título es significativo cuando es mayor de 1:20 (Castro, 2005).

### **B. Prueba del anillo de leche**

Es una prueba realizada en grandes establos, mayores a 100 animales, donde son analizados grandes volúmenes de leche para descubrir infecciones en el hato y es muy barata. Detecta anticuerpos IgM e IgA (IgG1). Para su ejecución un pequeño volumen de leche es mezclado con el antígeno teñido con hematoxilina o tetrazolio trifenílico y se tampona a un pH 3.3 a 3.7. (Garrido y otros, 2002).

Si el anticuerpo específico está presente en la leche, se unirá al antígeno y formará un anillo azul en la base de la columna de leche (Corbel, 2006). Esta prueba produce reacciones falsas positivas en vacas vacunadas muy recientemente o en muestras alteradas con calostro o con problemas de mastitis (Garrido y otros, 2002).

### **C. Reacción de Huddleson o aglutinación rápida en placa**

Se utiliza una suspensión de *Brucella abortus* al 3 -10% de gérmenes en fenol, con verde brillante y cristal violeta como antígeno. Se detectan anticuerpos IgM, IgG1, IgG2 e IgA. El título es significativo cuando es mayor de 1:40. En ocasiones se observa el fenómeno de prozona, donde puede estar ausente la aglutinación en los títulos más altos a causa de un exceso de anticuerpos. Este hecho debe tenerse en cuenta para evitar falsos resultados negativos por esa causa (Castro, 2005).

### **D. Prueba rosa de bengala**

Es la más difundida, cualitativa, rápida, barata, de ejecución simple en placa y es utilizada como prueba tamiz porque permite el procesamiento de un gran número de muestras por día. Posee una óptima sensibilidad, una buena especificidad y detecta infecciones precoces (Radostits, 2002).

Se pone en contacto una parte del suero (30  $\mu$ L) con 30  $\mu$ L de antígeno y se observa la presencia de aglutinaciones. Esta prueba utiliza como antígeno suspensiones de *Brucella abortus* al 8,5%, ajustadas a pH 3.6, con el agregado del colorante Rosa de Bengala en tampón lactato muy ácido. Detecta anticuerpos IgM e IgG1. Se informa como positiva o negativa y requiere la confirmación mediante fijación de complemento o ELISA (Garrido, 2002).

### **E. Prueba de fijación de complemento**

Esta técnica fue aplicada al diagnóstico de la brucelosis tanto en humanos como en animales en tiempos remotos, sin embargo, recientemente se ha extendido su uso en especial para diferenciar las reacciones dudosas. En la actualidad para detectar animales infectados se considera esta prueba más sensible que las otras pruebas de aglutinación por que dan menos reacciones inespecíficas y por las introducciones que se vienen dando en modificar la técnica en general. (Acosta y Ortiz, 2013).

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 (1119- 3), 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. El título significativo es mayor de 1:20 (Castro, 2005).

### **F. Prueba de ELISA**

Esta prueba es capaz de diferenciar animales vacunados de infectados. En la prueba de ELISA-I el antígeno se fija a placas de poliestireno, se incuba con el suero a investigar, posteriormente

se incuba también con un antiespecie conjugado con una enzima, se agrega el sustrato correspondiente y se mide el color desarrollado a la longitud de onda determinada. Pueden usarse conjugados que reconozcan las distintas clases de inmunoglobulinas. Los antígenos pueden ser particulados o solubles, lipopolisacáridos (LPS) u otras proteínas bacterianas, aunque se recomienda el epítipo "O" del LPS-L de la cepa 99 de *Brucella abortus*. Esta prueba detecta anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes aún en muestras de leche (Garrido y Garrido, 2002).

Una prueba de ELISA-I para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* ha sido validada en muestras de leche y suero de bovinos. Para las muestras de leche se determinó una sensibilidad de 99.6% y una especificidad 55 de 99.1% a 100%. Para las muestras séricas, la sensibilidad fue del 99.6% y la especificidad de 98.6%. Esta prueba utiliza un lipopolisacárido liso de *Brucella. abortus* como antígeno (Nielsen, 1996).

En la prueba ELISA-C se emplea un anticuerpo monoclonal que reconoce el epítipo "O" del LPS-L, que compite con los anticuerpos del suero por la unión al antígeno fijado en la placa. El revelado se efectúa con un anticuerpo anti-ratón conjugado con una enzima. Esta prueba detecta anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes. Se consideran positivos aquellos sueros con un porcentaje de inhibición mayor del 28%. Para diferenciar la respuesta de anticuerpos de bovinos vacunados con la cepa 19 y bovinos infectados con *Brucella abortus* (Castro, 2005).

### **G. Prueba de polarización de fluorescencia**

Permite medir anticuerpos infecciosos contra *Brucella abortus* en bovinos. También ha sido desarrollada y validada para porcinos, ovinos, caprinos, bisontes y ciervos (Gimenez y otros, 2011).

Esta técnica puede realizarse en sangre entera y leche y puede ser ejecutada en un laboratorio simple o en el campo (Dajer, 1999).

El fundamento de esta prueba se basa en una rotación aleatoria y el tamaño molecular es el principal factor que influye en la velocidad de esta rotación. Los 57 anticuerpos al unirse al antígeno cambian la velocidad de rotación de la molécula. Si se hace incidir un haz de luz fluorescente polarizada, el ángulo de difracción cambia en función del anticuerpo unido. Este cambio es medido por un detector que lo traduce en una señal. Emplea el antígeno polisacárido O (PSO) de *Brucella. abortus* conjugado con isotiocianato de fluoresceína. La interpretación de esta prueba es similar al ELISA-I (Castro, 2005).

## **2.7. Prevención**

### **2.7.1. Vacunación**

#### **A. Vacuna cepa-19**

Esta vacuna ha servido de base en todos los programas de erradicación de la brucelosis bovina en varios países. Es una cepa lisa, cultivo vivo de brucella, gran negativa que posee integro su lipopolisacárido (LPS) incluyendo la cadena "O", responsable de inducir los anticuerpos que reaccionan con los antígenos para el diagnóstico, cada dosis contiene entre  $20 \times 10^9$  CFU (Unidades de Formación de Colonias), se presenta comercialmente en forma de liofilizada. La presencia de lipopolisacáridos (LPS) con una cadena de O en la vacuna Cepa-19 explica la aparición y persistencia de anticuerpos en suero, después de la administración de esta vacuna. Se recomienda aplicar en terneras de 3 – 6 meses de edad en dosis de 2 mL ( $5 \times 10^9$  y  $8 \times 10^9$ ), vía subcutánea en la tabla del cuello (AEACA, 2009).

Las ventajas que presenta el uso de este biológico es que requiere inoculación única en toda la vida del animal, alcanza una

respuesta inmunitaria rápida y no presenta una reacción aglutinogénica, una infección patogénica ocasional persistente y requiere para su conservación una cadena de frío rigurosa (AEACA, 2009).

### **B. Vacuna cepa-RB51**

Es una vacuna viva atenuada liofilizada genéticamente estable, elaborada con una cepa rugosa de brucella esta se caracteriza que carece de la cadena "O" de lipopolisacáridos de la superficie bacteriana, que es la que determina la aparición de los anticuerpos detectables en las pruebas serológicas tradicionales y que interfieren en el diagnóstico de la enfermedad. Es segura a toda edad, pudiéndose aplicar en terneras desde los cuatro meses una dosis de 2 mL ( $1 \times 10^{10}$  y  $4 \times 10^{10}$ ). Admite una revacunación en adultos, obteniéndose así una inmunidad más sólida y duradera a diferencia de la cepa-19. En la revacunación, se reduce la posibilidad de tener animales mal inmunizados por fallas en la primera vacunación e impediendo de la fecha de vacunación. Esta vacuna es similar a la cepa-19 con la única característica de no dar anticuerpos que interfieren en el diagnóstico de la enfermedad (Martínez, 2008).

#### **2.7.2. Higiene**

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 (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 *Brucella 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, 2002).

### **2.7.3. Cuarentena**

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, 2002).

## **2.8. Control y erradicación de la brucelosis bovina**

Las justificaciones para la prevención y control de la brucelosis en las poblaciones animales son las mismas que para el control de la enfermedad en la población humana: beneficios económicos y la protección de la salud pública (Corbel, 2006).

El control de la brucelosis se apoya en la identificación de los animales infectados y en la eliminación de los mismos. Asimismo, la vacunación de los animales indemnes constituye un importante pilar en un plan de control para que, en una etapa posterior, la enfermedad pueda ser erradicada (Estein, 2006).

Sin embargo, la vacunación sola no es suficiente y debe ser acompañada por otras medidas tales como la restricción y control del movimiento y comercio de animales, sacrificio de los animales infectados y mejoramiento del estado sanitario de las granjas para reducir la diseminación de la enfermedad (Smits y Cutler, 2004).

Las operaciones de certificación de rebaños libres se apoyan en el serodiagnóstico, teniendo en cuenta la elección de las pruebas a ser aplicadas, sus características intrínsecas, costo y la practicidad de la ejecución. Se establecen las pruebas de rutina, a intervalos regulares, con

sacrificio de los animales positivos, hasta la obtención de tres o más pruebas negativas para todos los animales de reproducción. Como el diagnóstico positivo significa la remoción del animal de la población, las características de sensibilidad y especificidad de las pruebas se tornan muy importantes, pues la obtención de resultados falso-positivos significa sacrificar animales sanos, y resultados falsos negativos significa dejar fuentes de infección en contacto con animales sanos (Samartino y otros., 2007).

Rosenfeld y otros (2007) plantean 2 factores fundamentales que afectan el éxito de un programa de control y erradicación de la brucelosis bovina los que son: La permanencia en el rebaño de animales positivos (fracaso de la estrategia de sacrificio inmediato de animales reaccionantes) y las prevalencias de infección superiores al 17%.

Se han realizado pocos estudios con relación a la evaluación y control de programas de erradicación de la brucelosis bovina. Entre ellos tenemos el trabajo de Moreno y otros (2003) que diseñaron un programa para el control de la brucelosis, el cual se implementó en 54 establos lecheros en Tijuana. Comenzaron recolectando muestras sanguíneas de los animales mayores de seis meses de edad desde los años 1998 hasta el 2001. El primer año se determinó una prevalencia de 2.6%. Luego de determinada la prevalencia de inicio, se hicieron recomendaciones a los ganaderos con hatos negativos tales como realizar un muestreo serológico de sus animales cada seis meses; realizar un buen manejo en el momento de comprar animales nuevos; mantener en lo posible el hato cerrado y en el caso de hacer una compra de animales, exigir un certificado de hato libre y bajo cuarentena a los animales nuevos; realizar un buen manejo de las placentas utilizando recipientes con cal; desinfección con hipoclorito de sodio; control de otros animales, en especial de perros.

Investigaciones realizadas reportaron que se presenta un mayor riesgo de presentar la enfermedad en hembras y en animales mayores de 5 años, hatos dedicados a la producción de leche y en los que no investigan el estado sanitario de los animales previo a su introducción a las fincas y en los bovinos que ingresan a la finca y en las que no vacunan contra la enfermedad (Zambrano y otros, 2015).

Espinoza (2010) refiere que la presencia de brucelosis en Gualaquiza es del 2.2%, el 90% del total de la muestra corresponden a bovinos hasta los 8 años de edad, siendo la prevalencia de brucelosis bovina de 10%. De los 5 casos positivos, 4 fueron detectados en hatos con manejo reproductivo mixto. Menciona también, que existe relación altamente significativa entre la prevalencia de la enfermedad y el tipo de manejo reproductivo y no hay dependencia estadística con la edad ni el sexo del animal.

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 (Olivera, 2001).

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 (López, 1994).

En la cuenca lechera de Cajamarca se realizan los Programas de Control y Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina, por lo que la

incidencia de estas dos enfermedades es sumamente baja. Además, se ha creado un Fondo para la Reposición de Animales Positivos (Escorra, 2001).

En el año 2002 se han incorporado al programa tres nuevos departamentos o Direcciones de SENASA: Chota y Madre de Dios en el primer semestre y San Martín en el segundo semestre (SENASA, 2008).

Estudios realizados por Ventocilla y otros (2009) en Tarma, Junín indicaron que de 344 sueros analizados resultaron negativos a las dos pruebas de laboratorio por lo que no se determinaron anticuerpos contra *Brucella sp.* Refieren que este resultado es indicativo que los animales no tuvieron experiencia con la *Brucella abortus*, *B. melitensis* o *B. suis*, y concuerda con los resultados previos obtenidos en el Valle del Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo), donde se encontró una prevalencia menor a 1% con las pruebas de rosa de bengala y aglutinación en placa y de 0.28% con la prueba de ELISA indirecta (Cruz, 1996).

## **2.9. Legislación sobre brucelosis bovina**

En la mayoría de países, la brucelosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria (Radostits y otros, 2002). Los programas de control de cada región deben recibir la atención merecida y cualquier plan o planes deben adaptarse a dicha región.

Asimismo, es fundamental la cooperación de todos los organismos oficiales, desde el gobierno local hasta el nacional. De más está mencionar que la eliminación de los animales infectados puede suponer un problema económico serio para el ganadero y se deben considerar las posibilidades de pagar compensaciones económicas. Y otro punto importante es el control de los movimientos de animales de una zona a otra ya que un estricto programa de control se puede ver anulado por las negligencias de una zona contigua (Radostits y otros 2002).

A nivel mundial, la Organización Panamericana de Salud (OPS/OMS/BID, 1986) ha establecido un reglamento para el mejor control de la brucelosis a nivel internacional.

Para la importación de bovinos de cría y recría es necesario un certificado zoosanitario internacional que indique que los bovinos exportados no presentaron ningún signo clínico de brucelosis el día del embarque y que proceden de un hato en el que no ha habido ningún caso de brucelosis desde seis meses atrás. Los bovinos deben proceder de un país o de una zona libre de brucelosis bovina y deben ser sometidos en los 30 días anteriores al embarque a pruebas de seroaglutinación y fijación de complemento con resultados negativos. Si los bovinos proceden de una zona que no es libre de brucelosis, deben ser aislados y sometidos a dos pruebas serológicas con resultados negativos efectuadas con un intervalo de 30 días, con la segunda prueba realizada 15 días antes del embarque. En las hembras preñadas se debe hacer la segunda prueba serológica dos semanas después del parto.

Para la importación de bovinos para consumo es necesaria la presentación de un certificado zoosanitario internacional que los bovinos no están eliminados dentro del marco de un programa de erradicación de brucelosis, proceden de un país o una zona libre de brucelosis bovina, proceden de un hato oficialmente libre de brucelosis bovina o fueron sometidos a una prueba serológica 30 días antes del embarque con resultados negativos.

Para la importación de semen es necesaria la exhibición de un certificado zoosanitario internacional que indique que los animales que proporcionan el semen proceden de un hato oficialmente libre de brucelosis, que la prueba de seroaglutinación efectuada en los 30 días antes de la emisión del semen fue negativa, que el semen no contiene aglutininas anti-brucela y que los animales que proporcionaron el semen

permanecieron los 60 días anteriores a la emisión del semen en un centro de inseminación artificial cuyo ganado está libre oficialmente de brucelosis bovina.

Para la importación de embriones el certificado necesario debe indicar que las hembras donantes proceden de un país o de una zona libre de brucelosis bovina o de un hato oficialmente libre de brucelosis. Que las hembras donantes fueron sometidas a una prueba serológica de aglutinación o fijación de complemento en los 30 días anteriores a su salida hacia el lugar de recolección y presentaron resultados negativos a brucelosis.

En nuestro país, se aprobó recién en el año 2000 el Decreto supremo N° 033-2000-AG del Reglamento de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina (SENASA, 2008). Este reglamento consta de 16 Capítulos (Anexo 1).

La certificación que reconoce a un hato como libre de Brucelosis Bovina, es otorgado a todo aquel que cumpla con los requisitos establecidos en el Reglamento de Control y Erradicación aprobado por decreto supremo 033-2000-AG y que su población de ganado haya resultado negativo al diagnóstico de la prueba de rosa de bengala, fijación de complemento y ELISA.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se realizó en establos lecheros de crianza familiar en la campiña de Moche, distrito de Moche en la Provincia de Trujillo, Región La Libertad (Anexo 2).

#### **3.2. Animales**

Se trabajó en 114 bovinos hembras, mayores, en edad reproductiva de los establos lecheros de crianza familiar.

#### **3.3. Materiales**

- Tubos al vacío.
- Gradillas.
- Placa de vidrio dividida en cuadrantes de 4 x 4 cm.
- Agujas y tubos vacutainer.
- Pipeta automática graduada.
- Plumones de tinta indeleble.
- Mezcladores.
- Mascarillas.
- Guantes.
- Hojas de registro.

#### **3.4. Equipo**

- Cooler o hielera.
- Centrífuga.
- Refrigeradora.
- Aglutinoscopio.

### **3.5. Reactivos**

Antígeno rosa de bengala, suspensión de células de *Brucella abortus* cepa 1119-3, coloreada con el colorante rosa de bengala, inactivada por calor y concentrada por centrifugación, para obtener un paquete celular al 3% o al 8%, para ser empleada en la prueba diagnóstica mediante la prueba de la placa (card test).

Suero control positivo.

### **3.6. Población y muestra**

Se consideró toda la población bovina de crianza familiar de la campaña de Moche.

### **3.7. Medición de variables**

Animales positivos: variable cuantitativa que se determinará con el total de los animales posterior a la prueba diagnóstica.

Edad: variable cuantitativa que se determinó según los siguientes grupos etarios: Menores a 2 años; de 2 a 4 años y de 4 años en adelante.

### **3.8. Metodología**

#### **Toma de muestras.**

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coxígea. El suero fue extravasado en viales de 5 mL y conservados en congelación.

En la toma de muestras, se consideró las siguientes recomendaciones:

- Tener una hoja de registro, de cada uno de los animales, para evaluar los resultados de la investigación (Anexo 3).
- El material utilizado en la extracción de sangre (vacutainer) y

traslado de la muestra (tubos, jeringas, etc.) estuvo en un lugar seco y limpio; ya que los restos de humedad y partículas de suciedad provocarían hemólisis.

- Las muestras de sangre fueron extraídas sin anticoagulantes en tubos al vacío, por punción coccígea a los animales examinados (Anexo 4).
- Se identificó, rotulando siempre con claridad, escribiendo con marcador indeleble en los tubos al vacío.
- Inmediatamente después de haber obtenido la muestra de sangre, se colocó en tubos, en plano inclinado, para aumentar la superficie de coagulación y formar el “pico de flauta”, que permite la separación más rápida del suero. Es importante siempre ubicarlos a la sombra, en un lugar fijo, no sometido a temperaturas extremas ni movimientos bruscos (Anexo 5).
- Se trasladó al laboratorio de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego
- Se centrifugó los tubos con sangre, luego se trasvasa el suero a viales usando pipeta automática, para evitar posibles daños en la muestra, teniendo en cuenta todas las normas de seguridad e higiene que sea posible, y así se evitó la hemólisis (Anexo 6).

#### **Procesamiento de la muestra.**

- Se lleva a temperatura ambiente el reactivo y muestras de suero.
- Utilizando una pipeta automática graduada, se tomó 30  $\mu\text{L}$  (0.03 mL) de la muestra de suero, con la precaución de no transferir células sanguíneas, se utiliza una punta estéril de la pipeta por cada muestra (Anexo 7).
- Se deposita la muestra de suero en forma de lágrima en la placa de vidrio cuadrada.
- Se vierte 30  $\mu\text{L}$  (0.03 mL) de la suspensión del antígeno, en forma vertical en un área adyacente al suero (Anexo 8, 9, 10).

- Se mezcla el suero y antígeno con la ayuda de agitadores o mondadientes (uno por muestra), formando una zona de 2 centímetros de diámetro aproximadamente.
- Se levanta la placa de vidrio y se realizó movimientos rotatorios de adelante hacia atrás (2 a 5 minutos) (Anexo 11).
- Se espera un tiempo de 4 a 5 minutos para obtener la reacción, valiéndose de la lámpara del aglutinoscopio se observa, si aglutina es POSITIVO y no aglutina es NEGATIVO (Anexo 12).
- La lectura se realizó haciendo incidir una luz directa en la placa de vidrio; el resultado de la lectura del diagnóstico fue como positivo o negativo, en función a que en las reacciones positivas se presentan grumos de aglutinación, mientras que, en las negativas, éstos están ausentes (OIE, 2004) (Anexo 13).

### **3.9. Análisis estadístico**

Para la realización del análisis estadístico se utilizará una estadística descriptiva de tablas, el índice de prevalencia será calculado mediante el empleo de la siguiente fórmula:

$$\text{índice de prevalencia} = \frac{\text{Número de animales positivos}}{\text{Número de animales investigados}} 100$$

#### IV. RESULTADOS

De la investigación realizada en 114 vacunos de leche en la Campiña de Moche sobre brucelosis bovina, se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Prevalencia de brucelosis bovina en establos lecheros de crianza familiar, Campiña de Moche, 2017.

Estudiados	Positivo		Negativo		Índice de Prevalencia
	f	%	F	%	
114	0	0	114	100%	0%

Análisis. - El resultado fue que el 100% de los vacunos lecheros de crianza familiar evaluados dio negativo a la prueba de rosa de bengala, por lo que el índice de prevalencia de brucelosis bovina es del 0%.

De la investigación realizada sobre brucelosis bovina en la Campiña de Moche a 114 vacunos de leche, se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Prevalencia de brucelosis bovina por categoría en vacunos de leche de crianza familiar, Campiña de Moche, 2017.

Estudiados	Positivo		Negativo		Índice de Prevalencia
	f	%	F	%	
Vaca	0	0	78	100%	0%
Vaquillona	0	0	11	100%	0%
Vaquilla	0	0	25	100%	0%

Análisis. - La prueba de rosa de bengala que se realizó al suero sanguíneo de 78 vacas, 11 vaquillonas, 25 vaquillas, en cada categoría el porcentaje de prevalencia de brucelosis bovina es del 0%.

La investigación a 114 vacunos de leche en la Campiña de Moche sobre brucelosis bovina, se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Prevalencia de brucelosis bovina por establo en vacunos de leche de crianza familiar en la Campiña de Moche, 2017.

Estudiados	Muestras	Positivo		Negativo	
		F	%	F	%
I	8	0	0	8	100%
II	10	0	0	10	100%
III	4	0	0	4	100%
IV	9	0	0	9	100%
V	11	0	0	11	100%
VI	8	0	0	8	100%
VII	12	0	0	12	100%
VIII	13	0	0	13	100%
IX	15	0	0	15	100%
X	12	0	0	12	100%
XI	4	0	0	4	100%
XII	8	0	0	8	100%

Análisis: La prueba de rosa de bengala se realizó a 114 vacunos de leche pertenecientes a 12 establos de la zona de la Campiña de Moche, Trujillo; resultando en cada uno de ellos la prevalencia de brucelosis bovina del 0%

## V. DISCUSIONES

La presente investigación se realizó en establos de crianza familiar de la campiña del distrito de Moche, provincia Trujillo, departamento de La Libertad. Se evaluó a 114 vacunos de leche, utilizando la prueba de Rosa de Bengala, empleada para la detección de anticuerpos para *Brucella* spp, obteniendo una prevalencia de 0%, lo que quiere decir, que el total de vacunos en estudio fue negativos. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ventocilla en el año 2009 (Tarma) al aplicar la prueba de Rosa bengala a 344 vacas criollas, siendo el 99.9% reactores negativos.

El resultado negativo de los establos de crianza familiar, aun no siendo vacunados ni estando dentro del programa de control y erradicación de brucelosis bovina (SENASA); Se debe probablemente que no hay ingreso de animales nuevos a los establos en estudio, porque no compran ni adquieren animales de otros centros de producción, solo se dedican a la reproducción y selección de sus propios animales. Así también, no existe interacción con otros trabajadores que procedan de otros establos. Atribuyéndose de esta manera a la bioseguridad.

Así mismo, estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Tituana en Machala (2014) en 25 pequeñas ganaderías lecheras de la Sierra Suroeste de Ecuador, en donde se aplicó la prueba de Rosa bengala a 500 animales criollos, de diferentes edades, sexo y raza, cuyos resultados mostraron un índice de prevalencia de brucelosis bovina del 0%. Lo que indica el autor que puede deberse a la geografía de la sierra ecuatoriana y a la ausencia de vías de comunicación apropiadas, lo que limita el traslado e ingreso de animales nuevos a esa localidad, reprimiendo así en alguna medida el contagio o proliferación de la enfermedad.

Esto difiere de lo reportado por Eslava (2010) quien realizó un estudio de prevalencia en brucelosis bovina en los distritos de Moche y Virú, La Libertad, señalando que durante los años 2001 – 2009, existió la entrada de 1200 vacunos de carne de raza Cebú para los mencionados distritos, encontrando a mucho de ellos infectados, luego fue diseminada por técnicos y profesionales que atendían a los diversos establos y a pequeños ganaderos lecheros de Virú y Chao. Eslava, refiere además, que se pudo controlar la enfermedad en el año 2009, es decir, todo el ganado infectado con *Brucella abortus* de los diversos establos antes mencionado, se les trasladó al camal de Lima, tal como, refiere en el programa para brucelosis bovina, cuyo resultado fue satisfactorio porque en el año 2010 en Virú y Moche, no se reportaron incidencias de prevalencia, de los establos que se tomó el control, pero sí de algunos establos que aún no habían sacrificado sus animales; Asimismo tenemos que en el 2011 se reportaron 7 casos positivos en un solo establo.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, son similares a lo reportado por SENASA, en el año 2012 hasta la fecha, donde se encuentra con 0 casos de brucelosis bovina. Esto se puede atribuir al programa de vigilancia realizado por SENASA, sobre el monitoreo, control y movimiento de animales en la región, zonas de control en peajes a lo largo de la carretera panamericana, también puede ser un factor que impide que la enfermedad reaparezca por el ingreso de ganado “no documentado”.

En el presente estudio es importante mencionar que la mayoría de los animales son de raza Holstein, en números pequeños, criados de forma estabulada con escasa o ninguna tecnología, desinformados de las enfermedades de notificación obligatorias.

Finalmente consideramos que esta investigación es un aporte de datos importantes que permitirá contribuir a futuras investigaciones y

responder a los retos que lleven a combatir de manera más efectiva a las enfermedades como la brucelosis bovina, entre otras, por una vida más saludable y un crecimiento económico sostenible para los productores y ganaderos de la campiña de Moche así contribuir al ingreso económico de los empresarios pecuarios y al mismo tiempo se contribuye al control de la zoonosis.

## **VI. CONCLUSIONES**

Utilizando la prueba de rosa bengala se concluye, que no existe animales con brucelosis bovina, en establos lecheros de crianza familiar, en la campaña de Moche, demostrándose también que tampoco hubo índice de prevalencia.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Hacer llegar estos resultados a las entidades competentes, tanto públicas como privadas, que tienen como función velar por la sanidad animal, para que sea insertado en sus planes de acción, sobre el control y erradicación de Brucelosis bovina.

Continuar con la aplicación de la prueba Rosa de bengala, a los animales de los diferentes establos de la campiña de Moche, que no fueron localizados y, además, seguir monitoreando a los animales evaluados que se hicieron la prueba

Hacer evaluaciones en zonas aledañas en donde hubo registro de casos positivos.

Fomentar la educación sanitaria de bioseguridad, para dar a conocer la importancia de las enfermedades para concientizar y sensibilizar a los ganaderos acerca de esta enfermedad, con fin de evitar daños a la salud pública.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

Acha, P. y Szyfres, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol. I Bacteriosis y Micosis, 3ra ed. Organización Panamericana de la Salud. Washington, EUA. ISBN 9275319936.

Acosta, M. y Ortiz, M. 2014. Pruebas diagnósticas en brucelosis bovina. Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú. Recuperado de: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Pruebas-diagnosticas-en-Brucelosis-Bovina.pdf>.

Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro. 2009. Manual de procedimientos para la atención y control de brucelosis bovina en el Ecuador. Recuperado de: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/sanidad-animal/resolucion%200131%20rt%20-%20sa%20-%20manual%20de%20procedimientos%20para%20la%20atencion%20y%20control%20de%20brucelosis%20bovina.pdf>

Arétegui, M., Gualtieri, C., Domínguez, J. y Scharovsky, G. 2001. El género brucella y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. *Revista Veterinaria México*. 32(2): 131-139.

Arriaza, S. 2009. Utilización de la prueba de anillo en leche como método de monitoreo de brucelosis bovina a nivel predial en lecheras del sector SAG San Fernando, Chile.

Benavente 1956. Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa. *Revista de Investigaciones Pecuarias*, 7 (2): 127-132.

Biberstein, E. y Chung, Y. 1994. Tratado de Microbiología Veterinaria. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Blood, D. y Rodistits, O. 1992. Medicina Veterinaria. d. 3a ed. Interamericana. MC Gran-Hill, Ecuador.

Bruner, D. y Gillespie, S. 1993. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Ed. 3a, Edit. La Prensa. México DF - México.

Canales, 1968. Veterinaria Práctica, 8ta Edición Editorial. "El Ateneo", Buenos Aires.

Castro H, González, S. y Prat MI. 2005. Brucelosis: Una Revisión Práctica. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 39 (2): 203-216.

Che Moya 1959. La vaca lechera, su cuidado y explotación. México, Editorial.Limusa Wiley S.A.

Corbel, M. 2006. Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006.7. FAO, OIE, WHO eds, Suiza.

Cruz, J. 1996. Prevalencia de la brucelosis bovina en la cuenca lechera del valle del Mantaro. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

Dajer, A., Luna-Martínez, E., Zapata, D., Villegas, S., Guitiérrez, E., Peña, G., Nielsen, K. y Gall, D. 1999. Evaluation of a fluorescence-polarization 97 assay for the diagnosis of bovine brucellosis in Mexico. Preventive Veterinary Medicine.

Dragui, G. 2002. Una enfermedad infecto-contagiosa: Brucelosis. Revista IDIA XXI, 2: 105-108.

Decreto Supremo N° 033-2000-AG. 2000. Diario Oficial El Peruano. Aprueban reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina.

Delgado, I. y Vega, M. 1985. "Diagnóstico de Brucelosis bovina en 3 zonas representativas de la ganadería lechera en la Provincia del Cañar

en los cantones Azogues, Biblián y Cañar”. Tesis de Grado. Cuenca-Ecuador.

Deqiu, S., Donglou, X. y Jiming, Y. 2002. Epidemiology and control of brucellosis in China. *Veterinary Microbiology*.

England, T., Kelly, L., Jones, R., Macmillan, A. y Wooldridge, M. 2004. A simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing regimes. *Preventive Veterinary Medicine* 63: 63-73.

Escurra, E. 2001. Situación de la ganadería lechera en Cajamarca. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12 (2): 21-26.

Espinoza, P. 2010. Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Canton Gualaquiza, Provincia de Morona Santiago. Cuenca- Ecuador.

Espinoza, S. 2009. Prevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Virú, Provincia de Virú, Departamento de La Libertad. Tesis para optar el grado de Ing. Zootecnista. Trujillo, Universidad Nacional de Trujillo.

Estein, S. 2006. Brucelosis: inmunidad y vacunación (revisión bibliográfica). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050506.html>.

Garrido, M y Garrido, A. 2002. Género *Brucella*. En: Vadillo S, Píriz S, Mateos E, eds. *Manual de Microbiología Veterinaria*. España: McGraw-Hill Interamericana.

Gasque-Gomes, R. 2012. Enciclopedia bovina (UNAM), Recuperado de: [http://es.scribd.com/martin221082/d/55407879-Enciclopeida\\_Bolivia:UNAM](http://es.scribd.com/martin221082/d/55407879-Enciclopeida_Bolivia:UNAM).

Giménez P., Barcos O. y Moran R. 2011. Brucelosis: Técnica de polarización fluorescente, para estar seguros. *Revista Brangus*, Buenos Aires, 29(55):62-66

Hagan, W. 1970. Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos. 3er. Edición. Centro Regional de ayuda técnica. México.

Herrera-López, E., Hernández-Andrade, L., Palomares, G. y Días, E. 2007. Study of brucellosis incidence in a bovine dairy farm infected with *Brucella abortus*, where cattle was revaccinated with RB51. *International Journal of Dairy Science*, 1:50-57.

Irwin, E. 2010. Médico Veterinario, Supervisor de programas de sanidad animal para vacunos de lecheros en la jurisdicción del SENASA, La Libertad. Ex Supervisor del módulo de brucelosis y tuberculosis de SENASA de la Libertad.

López, E., Olivera, L., Perales, R. y Rosadio R. 1994. Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa. *Revista de Investigaciones Pecuarias* 7 (2): 127-132.

Maldonado, C. 2007. Sintomatología de la Brucelosis Bovina por Grupos Etarios. Buenos Aires – Argentina.

Martinez, G. 2008. Brucelosis bovina. Recuperado de: <http://www.vetzoo.umich.mx/phocadownload/Tesis/2008/MARzo/brucelosis%20bovina.pdf>

Mcgiven, J., Hendry, L., Brown, D., Stack, J., Perrett L. y Mawhinney I. 2008. The improved specificity of bovine brucellosis testing in Great Britain. *Research in Veterinary Science* 84: 38-40.

Moreno, R., Renteria, E. y Searcy B. 2002. Seroprevalencia y factores de riesgos asociados a la brucelosis bovina en hatos lecheros de Tijuana, Baja California. *Revista Técnica Pecuaria México*. 40(3):243-249.

Neira, L. 1997. Determinación de la incidencia de brucelosis (*Brucella abortus*) por cero aglutinación y cultivo en cinco fincas ganaderas del

Cantón Cañar. Tesis de Grado, Escuela de Ingeniería Zootécnica, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador.

Nielen, K., Gall, D., Lin, M., Massangill, C., Samartino, L., Pérezb, M., Hennager, S., Dajer, A., Nicoletti, P. y Thomas F. 1998. Diagnosis of bovine brucellosis using a homogeneous fluorescence polarization assay. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 66: 321-329.

Olivera, L. 2001. Sanidad del ganado lechero de la cuenca del sur. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2): 78-86.

Paredes, S. 2012. Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, Recinto Cristal de Leila. Escuela politecnica del ejército: Departamento de ciencias de la vida - Santo Domingo.

Parcker, M. 1980. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3ra Ed. Edit. Acriba. Zaragoza –España.

Peláez 1960. Estudio comparativo de pruebas serológicas de la brucelosis bovina. Tesis Bachiller. Universidad Nacional de San Agustín: Facultad Ciencias Biologicas - Perú

Quinn, P., Markey B., Carter, M., Donnelly, W. y Leonard 2002. *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. Zaragoza: Editorial Acribia SA.

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

Ramírez, M., Ernst, S., Elvinger, F., Rivera, A. y Rosenfeld C. 2002. Serologic response and time to eradication in herds with brucellosis

vaccinated with strain 19 or strain RB-51; 10th Region, Chile. Archivos de Medicina Veterinaria 34 (2): 213-220.

Ramírez, G. 1992. Brucelosis: Aspectos epidemiológicos e inmunológicos y de control. 1a Edic. Santafé de Bogotá.

Rivera, H. 2001. Causas frecuentes de aborto bovino. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 12 (2): 117-122.

Rosenfeld, C., De Blas, I., Ernst, S., Ramírez, C., Rivera, A., Silva, E. y Rojas H. 2007. Dinámica poblacional en rebaños que participan en el programa de erradicación de la brucelosis bovina en la Décima Región de Chile. Archivos de Medicina Veterinaria 39 (1): 27-34.

Samartino, L. 2003. Conceptos generales sobre brucelosis bovina. Jornada de Actualización sobre Brucelosis Bovina. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 7 p.

Samartino, L., Schut, M., Piazza, E., Salustio, E. y Conde, S. 2007. Diagnóstico de la brucelosis animal: implementación de nuevas tecnologías. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 15 (Supl. 1): 20-23.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria del Perú, 2008. Programa de control y erradicación de tuberculosis y brucelosis bovina. Recuperado de: <http://www.senasa.gob.pe>

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria del Perú, 2017. Informe-0020-2017-MINAGRI-SENASA-DELLB-ASA-CPACHECO.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria del Perú. 2009. Manual de diagnóstico serológico de la Brucelosis Bovina

Smits, H. y Cutler, S. 2004. Contributions of biotechnology to the control and prevention of brucellosis in Africa. African Journal of Biotechnology, 3 (12): 631-636.

Stringer, L., Guitian, F., Abernethy, D., Honhold, N. y Menzies, F. 2008. Risk associated with animals moved from herds infected with brucellosis in Northern Ireland. *Preventive Veterinary Medicine* 84: 72-84.

Szyfres 1974. Breeding efficiency related to number of gestation of cow. *J. Dairy Sci.* University of Florida.

Tituana, M. 2014. Prevalencia de Brucelosis bovina en fincas ganaderas del cantón Zaruma. Informe de Tesis. Universidad Técnica de Machala, Machala – Ecuador.

Vallejo, A. y Berbenni, P. 1986. Prevalencia de Brucelosis a nivel de hatos Lechero. Informe técnico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba – Ecuador.

Vazquez, J., González, M., Pardo, J., Iranzo, A., Sureda, M. y Andrés, M. 1994. Brucelosis en la provincia de Almería: Estudio retrospectivo en el período 1988 -1990.

Ventocilla, S., Delgado, A., Rivera, H. y Evaristo, R. 2009. Sero prevalencia de brucelosis sp en bovinos del Distrito de Tarma:, *Revista:Inv. Perú*, 20(2), pág., 346-359,

Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A. y Kobayashi, S. 2008. Evaluation of surveillance strategies for bovine brucellosis in Japan using a simulation model. *Preventive Veterinary Medicine* 86: 57-74.

Zambrano-Varón, J. y Thumond, M.C. 2015. Aproximación epidemiológica para medir y entender el aborto bovino. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2015. 56:309-326

Zuiko 1971. Detección de brucelosis en ganado bovino en el matadero modelo de Tingo Maria. Tesis Bachiller. Universidad Nacional del Altiplano: Fac Med Vet y Zoot. 1971:25

## IX. ANEXOS

### Anexo 1. Reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina

#### **REGLAMENTO PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA BRUCELOSIS BOVINA**

##### **CAPITULO I**

##### **DE LOS OBJETIVOS**

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

##### **CAPITULO II**

##### **DE LA ZONA DE TRABAJO**

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

##### **CAPITULO III**

##### **DE LOS RESPONSABLES**

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

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

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

---

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

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

#### CAPITULO IV

##### DE LA EJECUCION DEL PROGRAMA

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

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

#### CAPITULO V

##### DE LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS

**Artículo 9°.-** La prueba del anillo en leche (Ring Test) podrá emplearse al inicio de la campaña para la detección rápida de establos infectados. Asimismo, será empleada para mantener la vigilancia epidemiológica de la brucelosis en áreas o establos libres (3 pruebas con 4 meses de intervalo).

**Artículo 10°.-** La prueba diagnóstica de campo para la Brucelosis bovina es Rosa de Bengala, la cual será realizada por el Médico Veterinario que participa en el Programa de Control y Erradicación, o por laboratorios autorizados.

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

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

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

#### CAPITULO VI

##### DE LA VACUNACION DE TERNERAS

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

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

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

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

#### CAPITULO VII

##### DEL SACRIFICIO Y REEMPLAZO DE ANIMALES POSITIVOS

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

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

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

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

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

#### CAPITULO VIII

##### DE LOS ESTABLOS RECONOCIDOS COMO LIBRES DE BRUCELOSIS BOVINA

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## CAPITULO IX

### DE LAS AREAS LIBRES

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

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

## CAPITULO X

### DE LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

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

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

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

## CAPITULO XI

### DE LA EDUCACION SANITARIA

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

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

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

## CAPITULO XII

### DE LAS INSPECCIONES Y DISPOSICIONES SANITARIAS

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

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

## CAPITULO XIII

### DEL TRANSITO INTERNO DE GANADO

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

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

## CAPITULO XIV

### DE LAS FERIAS, REMATES Y EXPOSICIONES

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

## CAPITULO XV

### DE LOS ESTIMULOS

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

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

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

## CAPITULO XVI

### PROHIBICIONES Y SANCIONES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### **DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS**

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

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

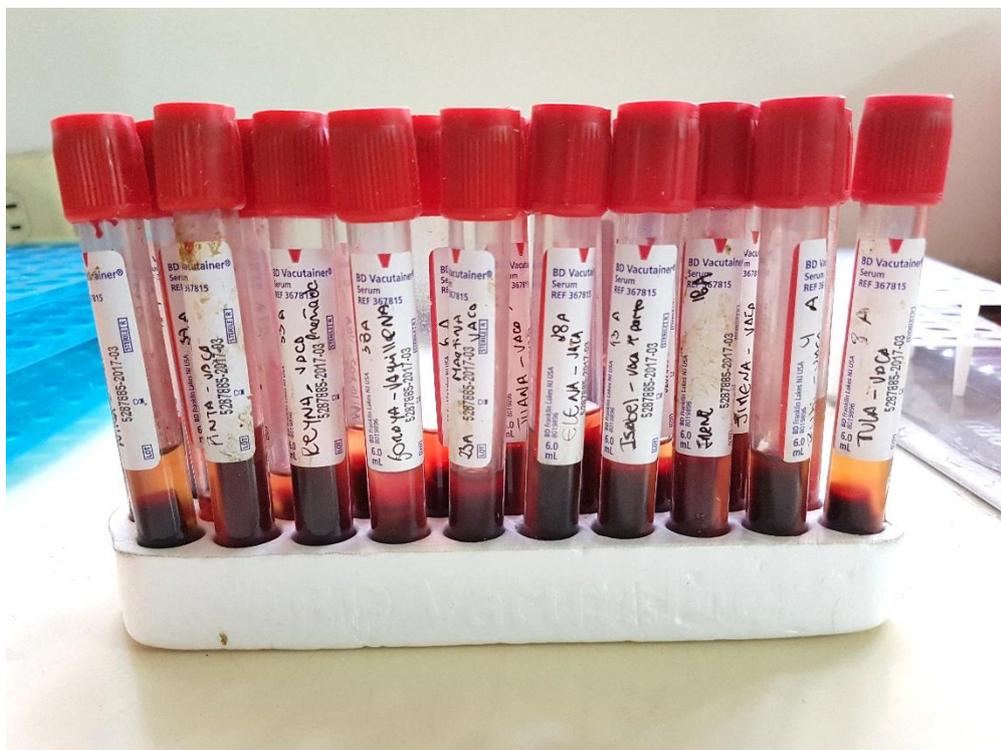
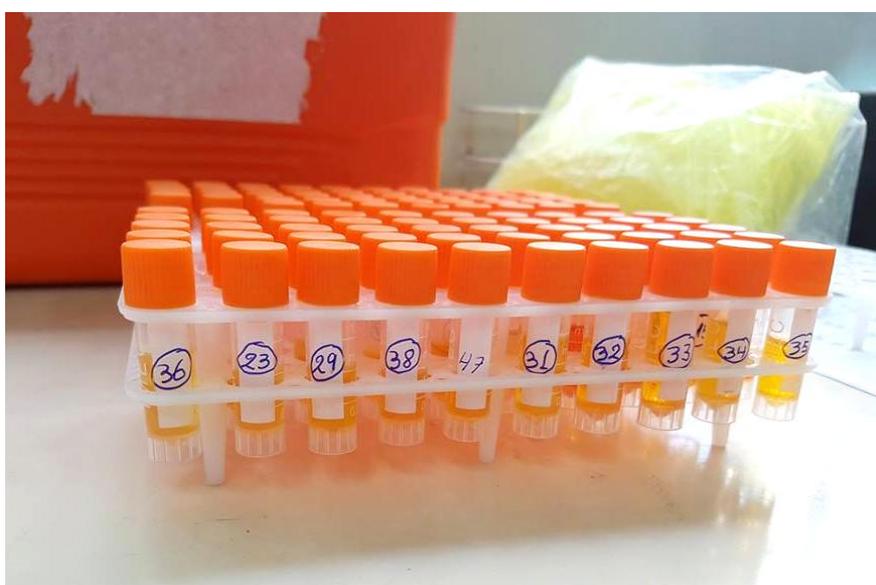
**Tercera.-** Determinada la prevalencia de la Brucelosis bovina el SENASA, dentro del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis bovina fijará el tiempo que dure el proceso de erradicación a nivel nacional.

**Anexo 2.** Mapa referencial sobre ubicación de la Campiña de Moche



**Anexo 4.** Recolección de muestras (punción en vena coxígea y extracción de sangre)



**Anexo 5. Muestras recolectadas****Anexo 6. Viales con suero sanguíneo**

**Anexo 7. Extracción de suero con pipeta automática**



**Anexo 8. Extracción de antígeno**



**Anexo 9.** Colocación de antígeno y suero sanguíneo sobre placa del aglutinoscopio



**Anexo 10.** Antígeno y suero combinados



**Anexo 11. Movimientos rotatorios sobre placa de vidrio**



**Anexo 12. Lectura de muestras**



**Anexo 13.** Resultados sin aglutinación (negativos)

