



Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *BRUCELLA ABORTUS* EN BOVINOS EN 5 HATOS DE TOURNAVISTA-HUÁNUCO”**

Tesis para Optar el Título Profesional de:  
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

CRISTHIAN SAMAME CORDOVA  
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**ASESOR:**  
Mg. SIEVER MIGUEL MORALES CAUTI

**LIMA - PERÚ**

**2019**

## Acta de Sustentación de Tesis

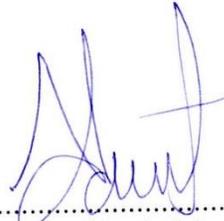
Siendo las 18:00 horas del 28 de marzo de 2019, en el Auditorio – Campus Villa I, bajo la presencia del jurado examinador nombrado por **Resolución Directoral Académica de Carrera N° 108-DACMVZ-DAFCVB-U. CIENTÍFICA-2018**, presidido por el Dr. Alexei Santiani Acosta, M.V. Milena Paola Montenegro Vega, Mg. Raquel Watanabe Watanabe y el Mg. Siever Miguel Morales Cauti como Director – Observador. Se procedió en acto público a la sustentación de la tesis **“PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS EN 5 HATOS DE TOURNAVISTA-HUÁNUCO”**.

El presidente concedió el uso de la palabra al Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia **Samame Cordova Crithian**, para la sustentación de su tesis. Luego de la exposición, el bachiller absolvió las preguntas del Jurado y del público asistente.

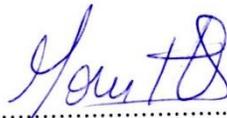
El Jurado acordó otorgarle la nota de:

..... Diecisiete ..... (17)

El presidente del Jurado dio por culminado el acto de sustentación y levantó la sesión a las 18:00hrs.



.....  
**Dr. Alexei Santiani Acosta**  
Presidente



.....  
**M.V. Milena Paola Montenegro Vega**  
Miembro



.....  
**Mg. Siever Miguel Morales Cauti**  
Director - Observador

## DEDICATORIA

A mis padres, por estar conmigo, por apoyarme y guiarme, por ser las bases que me ayudaron a llegar hasta aquí.

A mis hermanas, por el apoyo incondicional que me brindaron durante la realización del presente proyecto.

## AGRADECIMIENTO

Al Mg. Siever Morales Cauti, por el compromiso y dedicación para desarrollar una investigación a detalle sobre una enfermedad tan importante para el país.

Al Laboratorio Microbiología de la Universidad Científica del Sur y al ESSALUD de Tournavista-Huánuco por brindarnos las instalaciones para poder realizar los análisis primarios de la tesis.

A los docentes de la Universidad Científica del Sur, por su dedicación.

Y por último agradecer a los ganaderos por su colaboración en el proyecto a Nemecio Samame Herrera, Florvirio Samame Herrera, Isidro Carrillo, Carloman Montenegro Dávila y Rodil Ramírez Dávila.

## RESUMEN

Tournavista es un distrito que se encuentra dentro de la provincia de Puerto Inca, que a su vez está situado en el departamento de Huánuco, y cuya actividad económica principal es la ganadería. En el distrito existen varios centros acopiadores de ganado bovino cuyo destino final principalmente es la ciudad de Lima, y minoritariamente la ciudad de Pucallpa, Huánuco, y otras ciudades cercanas. La introducción de animales a la región, es desarrollada por los canales de comercialización utilizados por los acopiadores, sin ningún tipo de control sanitario sobre los animales. En tal sentido, debido a que este problema afecta a la salud pública y salud animal, este estudio busca determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en bovinos en 5 hatos de Tournavista, Huánuco, para tal efecto se tomó 976 muestras de suero sanguíneo de bovinos, dichas muestras fueron analizadas con la técnica de aglutinación por Rosa de Bengala para detectar anticuerpos contra la bacteria; la confirmación de los resultados positivos fue gracias a la prueba de Elisa. Encontrándose una prevalencia aparente de Brucelosis Bovina mediante la prueba de Rosa de Bengala de 14.75% y ELISA de 13.93%. Se usó el programa de simulación @risk para determinar una prevalencia más precisa y también se usó la fórmula para hallar la prevalencia real respecto a la especificidad y sensibilidad de las pruebas diagnósticas (Rosa de Bengala y ELISA), resultando 14.98%. Encontrándose asociación significativa ( $p < 0.05$ ) entre la seropositividad frente a hatos ganaderos y categoría zootécnica. Concluyéndose en que la brucelosis bovina en estos hatos es relativamente alta siendo necesario la implementación del Programa de Erradicación de Brucelosis Bovina en el Distrito de Tournavista que contribuya a una vigilancia y el exterminio de la enfermedad.

**Palabras claves:** prevalencia aparente, prevalencia real, *Brucella abortus*, Tournavista, bovino.

## ABSTRACT

Tournavista is a district that is located within the province of Puerto Inca, which in turn is located in the department of Huánuco, and whose main economic activity is livestock. In the district there are several cattle collection centers whose final destination is mainly the city of Lima, and minority the city of Pucallpa, Huánuco, and other nearby cities. The introduction of animals to the region is developed by the commercialization channels used by the collectors, without any sanitary control over the animals. In this sense, because this problem affects public health and animal health, this study seeks to determine the seroprevalence of antibodies against *Brucella abortus* in cattle in 5 herds of Tournavista, Huánuco, for this purpose 976 blood serum samples were taken from bovines, said samples were analyzed with the agglutination technique by Rose Bengal to detect antibodies against the bacteria; The confirmation of the positive results was thanks to the Elisa test. Finding an apparent prevalence of Bovine Brucellosis by means of the Rose Bengal test of 14.75% and ELISA of 13.93%. The @risk simulation program was used to determine a more precise prevalence and the formula was also used to find the actual prevalence regarding the specificity and sensitivity of the diagnostic tests (Rose Bengal and ELISA), resulting in 14.98%. Finding a significant association ( $p < 0.05$ ) between seropositivity against cattle herds and zootechnical category. Concluding that bovine brucellosis in these herds is relatively high, it is necessary to implement the Bovine Brucellosis Eradication Program in the District of Tournavista that contributes to surveillance and the extermination of the disease. Key words: apparent prevalence, real prevalence, *Brucella abortus*, Tournavista, bovine.

Keywords: apparent prevalence, real prevalence, *Brucella abortus*, Tournavista, bovine

## I. INTRODUCCIÓN

La *Brucella abortus* es una bacteria que afecta al bovino; es intracelular facultativa, se multiplica evadiendo los mecanismos celulares y humorales, se elimina por la leche y secreciones del aparato reproductivo, que afecta a bovinos y seres humanos generando un problema de salud pública y pérdidas económicas pecuarias, que el estudio propone prevenirlas.

La enfermedad de la brucelosis es zoonótica de tipo accidental, afectando a los seres humanos ya que puede infectar de forma secundaria por la manipulación de los animales infectados (Fernández y Gómez, 2009), siendo los más expuestos los veterinarios y los consumidores de leche contaminada sin pasteurizar teniendo un periodo de incubación de semanas a meses, produciendo la fiebre de mediterráneo o fiebre de malta (Díaz, 2003); esta enfermedad está muy conocida a nivel mundial por su importancia de pérdidas económicas a nivel pecuario

(Samartino, 2003), las pérdidas también generan un costo social, que involucran costos de tratamientos médicos y salarios de las personas infectadas, y la pérdida del animal infectado (García, 1987).

El Perú se cuenta con 5 156 000 bovinos (INEI, 2012), en el departamento de Huánuco 607 455, Provincia de Puerto Inca 299 700 y en el distrito de Tournavista con 49 807 (MINAGRI, 2018). Existen reportes desde el año 2000 de la enfermedad de brucelosis bovina en zonas aledañas al distrito de Tournavista perteneciente al departamento de Huánuco y distrito de Campo Verde departamento de Ucayali, eran menores al 1% y en el 2017 se incrementó hasta 6% (Cárdenas, 2000; Meza, 2010; Zavala, 2011; SENASA, 2017). **Este estudio tiene como finalidad determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacas y toros de 5 hatos en el distrito de Tournavista que pertenece al departamento de Huánuco, usando el test de Rosa de Bengala y Elisa como prueba confirmatoria.**

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. SITUACIÓN GANADERA EN LA SELVA PERUANA**

La selva representa el 60% del territorio nacional, siendo utilizada en un 16 a 20% con fines agropecuarios. Los bosques vírgenes reciclan grandes cantidades de nutrientes al año, con la caída de hojas en el suelo, van degradándose y fertilizando. En esta región, la ganadería se desarrolla por medio de la deforestación y quema de bosques vírgenes, disminuyendo de la fertilidad de los suelos, dando como consecuencia pastos degradados o en proceso de degradación (Ríos, 2007).

El número de hectáreas de tierras para fines agropecuarios es de 60 hectáreas para ganado de doble propósito, con cruces de Cebú con Holstein o Brown Swiss. También existen terrenos con más de 200 hectáreas que se encuentran alejadas de los centros poblados dedicándose solo a la producción de razas cebuinas, sobre todo con sangre Nelore y brahmán (Rosemberg, comunicación personal).

En la selva peruana, el departamento de Huánuco representa menos del 3% del territorio nacional, cuenta con 2 regiones (sierra y selva), representando un 59,74% y 40,26% respectivamente del territorio huanuqueño. En la zona de selva, se destaca la producción de carne bovina teniendo como mercado la ciudad de Lima. También se destaca por tener mayor producción de pasto braquearia del país, se calcula que se tiene un 40% de oferta nacional (Ríos, 2007).

En el gobierno de Belaunde Terry fue colonizada el distrito de Tournavista por la fundación Roy Le Tourneau en 1954, comprometiéndose a construir carreteras a cambio de una extensión de 400.000 hectáreas de terreno de selva con fines agrícolas y ganaderas (MTC, 2004).

El Perú es un país mega diverso dividido en 3 regiones (costa, Sierra y Selva) teniendo ganaderías con diversos sistemas y tipos de crianza en cada región, su desarrollo dependerá de factores ambientales y el uso de modernas tecnologías para ser una ganadería de éxito a nivel nacional,

La ganadería nacional se desarrolla básicamente en 3 modalidades: comercial, pequeña y media, y con producción de subsistencia, teniendo la ubicación en las 3 regiones del Perú, excepto la comercial que se localiza en la costa; la ganadería con producción de subsistencia y, de pequeña y mediana se caracterizan por poseer pocas cabezas de ganado sobre todo de tipo criollo, en la ganadería comercial las crianzas son de tipo intensivas con producciones de carne y leche, esta modalidad tiene mayor aporte económico, teniendo razas mejoradas e infraestructuras modernas (MINAGRI, 2017).

Conforme a lo mencionado líneas arriba, la ganadería en la Amazonia peruana está dentro de las 2 modalidades (pequeña y mediana, producción de subsistencia) y en el 2002 Fernández dijo que la selva peruana tiene las condiciones ecológicas favorables para la crianza extensiva de ganado bovino, en mayor y menor escala, pero en el aspecto sanitario las enfermedades infecciosas y parasitarias limitan la producción y reproducción de los animales.

La ganadería resulta de vital importancia ya que aporta a la alimentación de la población con 2 grandes derivados, que son la leche y la carne, siendo las principales fuentes de proteína animal que consumen los peruanos, y que cada año este consumo va aumentando acorde con

el crecimiento de la población. En el 2017 se mencionó que cada peruano consumió 87 litros de leche y 6,17 kg de carne de bovino anuales y con tendencia aumentar cada año (MINAGRI, 2017).

## 2.2. ENFERMEDADES DE BOVINOS

En los bovinos existen diversas enfermedades y agentes causales que producen pérdidas económicas para el ganadero, es de vital importancia conocer y evaluar las condiciones del animal (Odeón y Romero, 2017). Las enfermedades del bovino, dependerán principalmente de las condiciones fisiológicas del animal, del medio ambiente en que se encuentra y de la presencia de agentes que producen enfermedades. Las principales enfermedades que afectan al bovino causantes de abortos o muertes embrionarias: Rinotraqueitis infecciosa bovina, Diarrea viral bovina, *Leptospira*, *Neospora canis*, brucelosis bovina (Paredes, 2012).

El complejo respiratorio bovino (CRB), entre los agentes de la CRB puede citarse el Herpesvirus causante de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) teniendo prevalencia de 46,3 % (Rivera *et al.*, 2004), y en Parinacochas con un 67.6% (Zacarias, 2002). Entre los signos está la letargia, la falta de apetito y el abatimiento, y los signos respiratorios habrá una tos leve, secreción nasal (Rivadeneira, 2012).

La Diarrea Viral Bovina (DVB), producido por un virus de tipo ARN y se adquiere por contacto directo (ingestión o inhalación) e indirecto (inseminación artificial) con los animales infectados produciendo muerte embrionaria o fetal, aborto, momificaciones congénitas (Huamán, 2006). El virus tiene gran importancia en el país, con índices de prevalencias que van de 0 a más del 90% (Rivera *et al.*, 2004). La transmisión del virus en hatos susceptibles es mayor siendo los más susceptibles la crianza intensiva (Houe, 1995). Se desconoce la prevalencia en la selva peruana, posiblemente por la población reducida y el tipo de crianza de bovinos (Rivera *et al.*, 2004).

La *Leptospira* es una enfermedad bacteriana que atraviesa las mucosas asociado a abortos en bovinos, tuvo reportes de prevaecía mayor al 50% en Pucallpa departamento de Ucayali y en Puno menores al 3% (Chauca, 2008); dicha bacteria se diagnostica serológicamente y bacteriológicamente para su posterior control del hato (Rivera *et al.*, 2004).

La enfermedad parasitaria causada por el protozoo *Neospora Caninum* se denomina Neosporosis bovina teniendo como signo clínico el aborto, en SAIS Pachacutec hubo una prevalencia menor al 15% (Puray, 2006), la transmisión se da por vía oral contaminados con ooquistes de heces perros infectado (Basso *et al.*, 2001).

### 2.2.1 ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS

En la crianza bovina existen parámetros reproductivos; sin embargo, existen enfermedades relacionadas con la reproducción, donde estos parámetros pueden verse afectados por una gran cantidad de agentes etiológicos provocando en la gestación (Marin *et al.*, 2011).

Entre las enfermedades reproductivas existen las parasitarias entre ellas tenemos a la neospora. Se trata de una parasitosis de los caninos que se excreta en ooquistes, afectan a las hembras bovinas adultas (Anderson *et al.*, 2000; Dubey, 2003). Siendo la más importante causa de abortos en bovinos y morbilidad neonatal. Se transmite por vía placentaria en un 80% de madres infectadas y vía oral por calostro contaminado, al nacimiento se puede producir alteraciones nerviosas centrales y becerros débiles que generalmente muere durante los primeros días de vida (Guamán, 2011).

El virus que afecta a varios sistemas (respiratorio, genital y nervioso) es la Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) se transmite de forma directa (contacto directo) e indirecta (personas o equipos), causan lesiones en vulva y pene con abortos en la mitad de la gestación (Marin *et al.*, 2011).

La diarrea viral bovina (DVB) es una enfermedad causada por un virus que afecta a los animales más susceptibles, bajo defensas o hembras preñadas; la identificación con métodos diagnósticos de esta enfermedad es una limitante por lo costoso y no son muy cotidianos en su uso de la ganadería (Rondón, 2006; Marin *et al.*, 2011).

Finalmente, están las enfermedades bacterianas, una de ellas es la brucelosis bovina teniendo un impacto social y económico en las ganaderías de carne y de leche tienen el problema de la salud pública, el contagio es a través del consumo de leche sin pasteurizar siendo un contagio accidental, se caracteriza por una enfermedad crónica siendo el principal problema

de los ganaderos el aborto causando grandes pérdidas económicas para ellos. (Reyes, 2015; Blasco, 2002; Robles, 2002).

## 2.3. BRUCELOSIS

### 2.3.1. ANTECEDENTES

La brucelosis se conoce desde 450 a.c (Hipócrates) referentes a casos de humanos; se expandió a otros países siendo en particular la isla de Malta donde la brucelosis tomó el nombre de fiebre de Malta siendo una enfermedad crónica débil (Padrón *et al.*, 2011).

La historia de la brucelosis ha sido tratada por varios autores, siendo definida adecuadamente por David Bruce en 1887, aisló por primera vez al agente etiológico de fiebre de Malta del hombre, el cual llamó *Microccus melitensis*, que descubrió primero en casos de 4 bazos fetales en la base naval inglesa de Malta y poco después de un soldado fallecido donde también se analizó el bazo, siendo la causa el mismo patógeno por el consumo de leche de cabra sin hervir (Rodríguez *et al.*, 2005).

En 1905 en New York llegó un barco que tenía 60 cabras que los tripulantes consumían su leche y eran provenientes de Malta, a las pocas semanas luego de la ingestión de la leche de cabra los tripulantes la enfermedad, de ahí surge el concepto de zoonosis por el consumo de subproductos lácteos con el microorganismo luego en 1906 se dio el primer reporte sobre fiebre de Malta (Beltrán *et al.*, 2011).

En 1910, importaron cabras de Europa por el alto consumo de leche que América tenía, luego de 4 años Alice Evans comprobó los parentescos etiológicos aislados por Bruce, Bang y Traum, se puso el nombre *Brucella* a la bacteria en homenaje a Bruce, quien aisló por primera vez el agente en 1887 (Rodríguez *et al.*, 2005).

### **2.3.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA**

Esta enfermedad posee gran importancia a nivel mundial teniendo la mayor importancia en el ganado de leche por el consumo de los derivados lácteos o de la misma leche, los índices prevalencia de la brúcela varía según el país (Aréstegui *et al.*, 2001; Estein, 2006; Ávila y Cruz, 2009).

Las pérdidas económicas son de dos tipos directas e indirectas, entre las directas se encuentran los casos de abortos en los últimos meses de hembra gestante y la indirecta se trata de las pérdidas ocasionadas de las directas (Córdova *et al.*, 2016), también existe una importancia en el costo social de los trabajadores, veterinarios, laboratoristas y consumidores de derivados lácteos sin pasteurizar (García *et al.*, 2013).

### **2.3.3. ETIOLOGÍA**

#### **2.3.3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

La bacteria *Brucella abortus* se clasifica como gramnegativa y es observada en el microscopio de forma cocobacilar de 0,4 a 1,5 um de largo y 0,4 a 0,8 um de diámetro, en ocasiones aparecen aisladas o en pares no forman capsula ni esporas y son móviles (Mosquera *et al.*, 2009).

En general los biotipos de *Brucella abortus* no presentan resistencia al calor y a los desinfectantes. La bacteria puede desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno dentro de la célula (Sbriglio *et al.*, 2007).

#### **2.3.3.2. GENOMA**

Para el género *Brucella* existe 2 características importantes, se encuentra 2 cromosomas circulares y la ausencia de plásmidos (Garrido y Garrido, 2002). La adaptación de un nicho ecológico de la bacteria en un ambiente intracelular lo explica la ausencia de plásmidos ya que es estable y sin competencia (Castro *et al.*, 2005; Rivera *et al.*, 2006).

### **2.3.3.3. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA**

La bacteria *Brucella* estructuralmente está envuelta por una membrana externa, interna y un espacio periplasmico (Castro *et al.*, 2005). En el espacio periplasmático existe peptidoglicano siendo proteínas responsables de la osmótica de la bacteria (Cloeckaert, 2002).

#### **2.3.3.3.1. LIPOPOLISACÁRIDOS (LPS)**

El LPS es un componente importante de la superficie de *Brucella sp.* Siendo una endotoxina y resiste a la fagocitosis de los macrófagos (Castro *et al.*, 2005; Young, 2005). El género *Brucella* se pueden clasificar como lisas(S) o rugosas (R)(Corbel y Morgan, 2009).

En la superficie de la bacteria existe la cadena O siendo un antígeno inmunodominante que inducirá a una respuesta serológica, produciendo la reactividad cruzada en las pruebas serológicas (Nielsen *et al.*, 2004)

#### **2.3.3.3.2. PROTEÍNAS DE MEMBRANA EXTERNA (OMPS)**

En las proteínas de membrana externa han sido evaluadas como alternativas para generar inmunidad y algunas proteínas se asemejan con algunas bacterias como *E.coli.* (López y contreras, 2004).

## **2.4. EPIDEMIOLOGIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA**

La enfermedad brucelosis bovina tiene un impacto social y económico en la salud animal que cada año sigue incrementando los casos y aumento las pérdidas económicas en todo el mundo (Guzmán *et al.*, 2016). Por estas razones se debe conocer con qué frecuencia aumenta la prevalencia de la enfermedad a nivel mundial y en distintas zonas del territorio nacional, anualmente. Teniendo una frecuencia elevadas y escasas de casos de la enfermedad, y estando libre en países europeos.

#### **2.4.1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA**

La incidencia y prevalencia de *Brucella abortus* se distribuye a nivel mundial excepto en Japón Canadá y países europeos, pero en países como Nueva Zelanda e Israel la enfermedad esta erradicada (SINAVE, 2013). La enfermedad limita en zonas de México, EEUU y Perú; existe una infestación en Ecuador; en Suriman existe sospechas de la enfermedad y donde no existe casos es en Canadá; la enfermedad se encuentra clínicamente en Venezuela, Colombia, Brasil, El Salvador (OIE, 2010).

#### **2.4.2. HOSPEDADORES NATURALES**

La *Brucella abortus* es una bacteria causante de abortos en distintas especies como bovinos, caballos, cabras, animales silvestres y es infectiva en el hombre (Ortega *et al.*, 2013). También se ha reconocido como patógenas para el hombre (Achá y Szyfres.; 1992; Bofill *et al.*, 1996).

#### **2.4.3. SITUACIÓN DE LA ENFERMEDAD A NIVEL MUNDIAL**

En Latinoamérica, las prevalencias de brucelosis bovina van desde 0.5 a 10% (Lucero *et al.*, 2008). En Sudamérica, en Chile se declaró libre de brucelosis en un 70% de su territorio en el 2017; en Uruguay van en 0.04%; en Brasil con 0.2%; en Paraguay con 2.27%, Bolivia y Argentina con 2,10% (Aznar *et al.*, 2014). Se declaró a Colombia libre de brucelosis bovina a su frontera con Perú (ICA, 2018).

#### **2.4.4. SITUACIÓN DE LA ENFERMEDAD A NIVEL NACIONAL**

Desde 1998 se da la existencia de un programa para controlar y erradicar la brucelosis bovina siendo este desarrollado por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (Diario Oficial el peruano, 2000) el importante logro alcanzado fue al declararse país libre de fiebre aftosa. Sin

embargo, las vacunaciones para otras enfermedades tales como la Brucelosis bovina, la rabia, el ántrax, aun no son tan usadas a nivel nacional (MINAGRI, 2017).

SENASA, en los últimos años se estuvieron realizando monitoreo serológicos constantes, en diferentes departamentos del país. En el 2016, se muestreo en Cusco y Cajamarca, 2000 y 17227 muestras respectivamente, al año siguiente se logró muestrear más departamentos como en Ucayali, Ica, Puno, Oxapampa, Arequipa, Lima, Tacna y Moquegua con 2575, 7000, 5500, 1500, 630, 1066, 1519 muestras respectivamente. Para el año 2018, se muestreo en Apurímac con 1020 muestras de suero bovino.

En los últimos años se viene dando certificación a hatos libres de la enfermedad con monitoreo continuos. En las provincias de Ica como Pisco, Ica, Palpa, Nazca se muestrearon más de 7 mil muestras teniendo como resultado hatos libres de brucelosis en el 2017, en Chachapoyas se otorgaron 62 certificaciones de hatos libres de la enfermedad a productores pecuarios. Hasta la actualidad en Junín, no se ha presentado casos positivos y no tiene antecedentes de la presencia de la enfermedad. Pero Arequipa viene siendo reconocida libre de Brucelosis bovina en las provincias de Castillas, Condesuyos, Islay, Caylloma.

En el 2017, la amazonia peruana también se viene dando certificados de predios libres de brucelosis bovina, pero dando preferencia a las áreas de crianza intensiva, en Ucayali ya se dio 31 predios libres de brucelosis. Pero se registraron 20 casos en la Aguaytía y SENASA tomo medidas sanitarias en el matadero municipal de la Provincia del Padre Abad, en el distrito de Campo Verde que pertenece a la Provincia de Coronel Portillo, se registró el 6% de prevalencia en los fundos evaluados.

El MINSa el 2017 estuvo capacitando a productores pecuarios sobre la prevención y control de brucelosis bovina, para prevenir el riesgo zoonótico que esta implica por el consumo de leche fresca, proveniente de animales positivos a esta enfermedad.

#### **2.4.5. TRANSMISIÓN**

La forma principal de contagio de la brucelosis bovina es la via oral, al estar preñada una vaca y teniendo la enfermedad al abortar, expulsa grandes cantidades de la bacteria,

contaminando los pastos donde otros animales herbívoros comerán el pasto contaminando y así se diseminará la enfermedad (Moreno y Moriyón, 2002; Martínez *et al.*, 2011).

La propagación dentro de una crianza intensiva y extensiva ocurre por transmisión, teniendo varias fuentes de contagio, siendo la vía digestiva la más importante epidemiológicamente, las secreciones fetales y restos de placentas o abortos, o del parto normal de animales infectados constituyen vehículos de infección, ocurre generalmente en el tercio final de la gestación. La vía transplacentaria también es una de las más importantes de la brucelosis, la infección uterina ocurre en el tercio de la gestación, determinado por lesiones en la placenta y en el feto, las cuales pueden ocasionar la muerte fetal seguida del aborto, nacidos muertos o en el nacimiento de becerros débiles (England *et al.*, 2004). La vía sexual tiene poca importancia en la diseminación de la brucelosis en el hato, debido a que el macho coloca el semen en la vagina de la hembra bovina y se ha demostrado que la microbiótica vaginal tiene acción inhibitoria sobre *Brucella abortus*, además se encontró una proteína en el moco cervicovaginal que protege el útero de la invasión por la *Brucella abortus*, al ser una vía de importancia de secundaria no significa que los reproductores infectados puedan ser utilizados sin riesgos (Duran, 2012).

#### **2.4.6. LA BRUCELOSIS BOVINA COMO ZONOSIS**

En el hombre, la infección por brucelosis está considerada como una zoonosis accidental al ser infectado en forma secundaria por la manipulación de los animales infectados (Fernández *et al.*, 2009). Las personas más expuestas a la enfermedad son los veterinarios que hacen chequeos ginecológicos, inseminación, vacunación, manejo de campo (Brough *et al.*, 2011; Ramos *et al.*, 2008). La infección por *Brucella abortus* generalmente es una enfermedad crónica que perdura por años; el contagio se da por vía oral es la principal forma por el consumo de derivados lácteos, agua que está contaminada con excreta de animales infectados. La incubación de la enfermedad generalmente dura de semanas, pero puede prolongarse a meses. Es una enfermedad bacteriana septicémica, fiebre continua, intermitente o irregular (Díaz, 2003).

En el medio rural el ingreso se da por contacto directo a través de la piel y mucosas siendo principalmente los afectados como veterinarios, ganaderos o pastores (Rodríguez *et al.*, 1998; Castro *et al.*, 2005).

## **2.5. RESPUESTA INMUNE**

La bacteria *Brucella* tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse dentro del celular del sistema reticuloendotelial, siendo este un microorganismo intracelular facultativo (Torioni, 2015).

### **2.5.1. INMUNIDAD INNATA**

Es una respuesta celular primaria ante la entrada bacteriana, reduciendo la cantidad bacteriana para la activación de la inmunidad adaptativa. Los macrófagos, neutrófilos, células Natural Killer y complemento, serán las células que estarán al frente de la respuesta celular (Golding, 2001; Rodríguez *et al.*, 2001; Torioni, 2015).

Los macrófagos estarán al frente de la inmune y fagocitarán y presentarán a las células presentadoras de antígenos a los linfocitos T (Forestier *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2002).

### **2.5.2. INMUNIDAD ADAPTATIVA**

Esta respuesta tiene un mecanismo de memoria y es el más efectivo frente a bacterias (Oliveira *et al.*, 1996). Estos mecanismos se basan en la producción y activación del macrófago, en la citotoxicidad de las células y opsonización de la bacteria para su posterior fagocitosis (Estein, 2006).

### **2.5.2.1. INMUNIDAD HUMORAL**

Es la inductora a la producción de anticuerpos y protege en etapas iniciales de una infección (Castro *et al.*, 2005). En el caso de animales protegidos con la cepa 19 de *Brucella* responderán con antígenos superficiales es decir contra los LPS-S, dichos anticuerpos serán detectables durante años a diferentes pruebas diagnósticas (Torioni, 2015).

### **2.5.2.2. INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS (IMC)**

La bacteria será dependiente de la IMC y es el principal activador del macrófago el IFN- $\gamma$  (Torioni, 2015). Luego activarse el macrófago se diferenciarán de las células efectoras y de memoria de las células T inmaduras (Th0) (Golding *et al.*, 2001).

## **2.6. SIGNOS CLÍNICOS**

La brucelosis bovina es una enfermedad asintomática en animales positivos pero produce el aborto se da en los últimos meses de gestación de la hembra, pero no en todas las vacas produce abortos, las que no abortan suelen ser animales de reservorio de la enfermedad (Ávila, 2009), en vacas preñadas la bacteria ingresa via oral y llega a penetrar las células epiteliales que reviste al útero, donde habrá focos inflamatorios a nivel de los cotiledones y carúnculas maternas (Maldonado, 2007); en caso de los machos se producirá un tropismo a nivel de los testículos causando orquitis y epididimitis siendo una inflamación unilateral o bilateral (Díaz, 2003).

## **2.7. FISIOPATOLOGÍA**

la ingesta del alimento contaminado con la bacteria se diseminará via hematogena llegando a tejidos incluyendo el bazo y ganglios linfáticos mamaros e iliacos, donde los mecanismos de la respuesta inmune trataran de fagocitarlos, pero la bacteria tiene la capacidad de

sobrevivir y multiplicarse (Sbriglio, 2007; Miranda, 2011; Acha y Szyfres, 2001; Rodríguez *et al.*, 2001).

La bacteria *Brucella abortus* no tiene un signo patognomónico sin embargo produce abortos en los últimos meses de gestación , para la identificación de la bacteria se usan métodos directos que se aísla la bacteria por medio de cultivos e indirectos que se usan pruebas serológicas para determinar la positividad de la bacteria (Quinn *et al.*, 2002; OIE, 2009; Corbel, 2006).

### **2.8.1. MÉTODOS DIRECTOS**

Son pruebas bacteriológicas laboriosas, costosas y no son muy comunes (Noroña y Pozo, 2011). Para las muestras deben ser obtenidas descargas vaginales de una vaca que aborto, calostro, feto y placenta (Fensterbank, 1986; Rodríguez *et al.*, 2001). Esta prueba es la más específica que es aislado por medio de un cultivo (Kirkbride, 1990).

### **2.8.2. MÉTODOS SEROLÓGICOS**

Esta prueba busca la presencia de anticuerpos específicos contra la bacteria por medio de suero sanguíneo del animal evaluado, estas pruebas se caracterizan por determinar la presencia de anticuerpos aglutinantes (ICA, 2018). Estas pruebas son muy usadas y de un rápido diagnostico a diferencia del método directo.

#### **2.8.2.1. PRUEBA ROSA DE BENGALA**

Eta prueba se caracteriza por la aglutinación rápida y la detección de inmunoglobulinas en la muestra, utiliza el antígeno *Brucella abortus* de cepas S1119-3 con un agregado colorante Rosa de Bengala actuando como tapón lactato, en contacto con el suero de la muestra evaluada se verá la aglutinación (Nicoletti, 1967; Samartino, 2004; Garrido y Garrido, 2002).

La prueba otorga una sensibilidad de 94% y una especificidad del 100% (Samartino *et al.*, 2007).

#### **2.8.2.2. PRUEBA DEL ANILLO EN LECHE (PAL)**

Esta prueba es muy usada en ganado lechero siendo rápida y fácil de realizar, también permite hacer diagnósticos a estanques de leche siendo capaz de detectar anticuerpos específicos de *Brucella* (FAO, 2003). La prueba usa antígenos hechos de *B. abortus* S99 o S1119-3, esta prueba tiene un bajo costo pero tiene la desventaja de obtener falsos positivos (Rivera *et al.*, 2003; Samartino, 2003).

#### **2.8.2.3. REACCIÓN DE FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO (RFC)**

La prueba tiene una elevada especificidad, pero no es muy usada por su complejidad porque para esta prueba requiere estandarizar el antígeno, hemolisina y hematíes lavados de carnero para medir el suero del animal muestreado (Nielsen, 2002; Acosta y Ortiz, 2014).

#### **2.8.2.4. ENSAYO INMUNOABSORBENTE VINCULADO A ENZIMA(ELISA)**

Esta prueba es altamente sensible, específica y versátil; la principal aportación es la medición por separado las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA específica; ELISA se encuentran normalizados tanto sus procedimientos de realización como sus reactivos; sus resultados se obtienen de forma automatizada eliminando la lectura subjetiva de los mismos (Acosta y Ortiz, 2014). Usa las microplacas de poliestireno del antígeno *B. abortus* cepa 99 y en la detección de anticuerpos una Ig bovino conjugado con peroxidasa (Rodríguez *et al.*, 1998).

## **2.9. PREVENCIÓN**

Un hato con brucelosis bovina es un hato que tendrá abortos en su último tercio de gestación donde la solución para dicha enfermedad es el beneficio de los animales infectados para su posterior erradicación; en el caso que no tuvieran animales positivos se debe tomar medidas preventivas como mantener hatos cerrados y en casos de ingresar nuevos animales se deberá tener en cuenta la cuarentena del lote de ganado comprado y exigir un certificado que acredite que los animales adquiridos sean libre de brucelosis bovina (Corbel, 2006).

## **2.10. CONTROL Y ERRADICACIÓN DE BRUCELOSIS BOVINA**

La existencia del Programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina se dio desde 1998 teniendo como pruebas convencionales el anillo de leche, Rosa de Bengala como pruebas de campo y la Elisa como prueba confirmatoria, este programa menciona que al tener animales positivos a las pruebas mencionadas se tendrán que beneficiar y su posterior vacunación de carácter obligatorio (SENASA, 2017).

Existen 2 vacunas usadas para prevención de la brucelosis bovina siendo la cepa 19 y RB51, estas vacunas son herramientas importadas para poder controlar la enfermedad de brucelosis bovina ya que permite eliminar a los animales positivos (Paiva, 2018; Mendoza, 2018).

Para la obtención de un certificado libre de brucelosis bovina se deberá hacer pruebas serológicas no antes de los 6 meses ni después de los 12 luego de haber dado el resultado negativo con anterioridad.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR DEL ESTUDIO**

El muestreo se realizó en el distrito de Tournavista durante el mes de agosto del 2017, es perteneciente a la Provincia de Puerto Inca, departamento de Huánuco. Se encuentra a una altitud de 250 m.s.n.m. con una condición climática cálida y húmeda, con una temperatura anual de 25 °C (Minsa, 2016).

Las muestras de sangre fueron centrifugadas en el Centro de Salud de Tournavista-Huánuco y las muestras de suero sanguíneo fueron remitidas y procesadas en el área de Microbiología ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad Científica del Sur.

## **3.2. Materiales**

### **3.2.1. ANIMALES**

Se muestrearon los 5 hatos cercanos del distrito de Tournavista, siendo el hato 1 y 2 de mayor población donde no se llegaron a muestrear todos los animales por problemas de manejo como corrales no adecuados y en mal estado, y los hatos 3,4 y 5 se muestrearon toda la población, siendo la población estudiada de 976 bovinos, se seleccionaron animales sin la

inmunidad materna es decir animales mayores de 4 meses de edad según lo establecido por SENASA, se escogieron entre hembras y machos, y se los separo por la categoría zootécnica: vaquilla, vaquillona vaca y toro. En su mayoría raza Brahman y el resto cruces con Brown Swiss, Holstein y Fleckvieh; los animales son criados a pastoreo y se usa la técnica de reproducción como la inseminación artificial y la monta natural.

### **3.2.2. Material Biológico**

#### **SUERO BOVINO**

Se utilizaron para la identificación de anticuerpos frente a la bacteria, a través del antígeno de cepas lisas de *Brucella sp.* con el reactivo de Rosa de Bengala, cepa 1119-3 (Instituto Nacional de Salud, Perú).

### **3.2.3. MATERIALES Y EQUIPOS**

En el estudio fueron utilizados: 2 Micropipetas de 10-100 µl, 1 Micropipeta multicanal de 10-100 µl , 976 Tubos anticoagulante tapa roja, 976 agujas n° 18G x 1 ½ “, 976 viales estériles, 500 pipetas Pasteur, 500 tips para micropipeta, 3 placa de vidrio para aglutinación, 2 litros de agua destilada, 2 recipientes para las soluciones de lavado y conjugado, termómetro para medir la temperatura ambiente (18- 26° C), 3 Antígeno Rosa de Bengala de 10 ml cada frasco marca IDEXX, 1 kit IDEXX Brucellosis Serum de 2 placas para 200 muestras, 1 litro alcohol,

2 coolers, 2 cinta maskin, 1 cronómetro 2 plumón indeleble, 1 libreta de apuntes y 5 lápices marcadores de colores para ganado.

Los equipos utilizados fueron: centrifugadora (Greetmed USA), refrigeradora (2-8 °C), laptop, cámara fotográfica, y espectrofotómetro para microplacas, con filtro de 450 nm (BioTek ELx808).

### **3.3. METODOLOGÍA**

#### **3.3.1. TAMAÑO MUESTRAL**

La población total estudiada es de 976 bovinos, a partir de 5 hatos; siendo el hato A = 442, el hato B = 361, hato C = 56, hato D = 75 y hato E = 43 animales muestreados entre hembras y machos; mayores a 4 meses.

#### **3.3.2. COLECCIÓN DE MUESTRAS**

A través de una punción de la vena coccígea se obtuvo las muestras a trabajar, y esto con ayuda de agujas n°18G 1 ½” y tubos vacutainer de tapa roja, siendo activador de la coagulación; se identificaron los tubos de las muestras de cada animal con el sexo, edad y el día en que se recolecto. Después de la extracción estas se almacenaron en coolers con hielo para su transporte al laboratorio del centro de salud de Tournavista; para la extracción del suero se usó por 5 minutos una centrifugadora de 3500 rpm con la ayuda de la pipeta Paster y se colocaron en los viales estériles siendo conservados en la congeladora y luego se procederá con la prueba Rosa de Bengala.

#### **3.3.3. PRUEBA DE SEROAGLUTINACIÓN EN PLACA**

La prueba de campo más usada es la Rosa de Bengala para la brucelosis bovina. El procedimiento para realizar el método: se extrajeron de los viales con suero debidamente identificados 30 µl con la ayuda de micropipeta de volumen 10- 100 µl, agrego 30 µl de Rosa de Bengala.

### **3.3.4. ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS (ELISA INDIRECTA)**

Para la realización de la prueba se prepararon 2 reactivos: la solución de lavado diluida 1:20 con agua destilada y la solución de conjugado diluida 1:100 en Buffer de solución N°1. Se extrajeron los sueros de los viales positivos a la prueba de Rosa de Bengala; se obtuvieron las placas tapizadas con antígeno de marca IDEXX y se anotó las posiciones de las muestras en una libreta. En cada pocillo se administraron 190 µl de solución tampón de dilución N°2. Luego se dispensaron los sueros controles del kit no diluidos de la siguiente manera: 10µl del suero control negativo del kit (CNK) en los pocillos A1 y B1, 10 µl del suero control positivo del kit (CPK) en los pocillos C1 y D1, el resto de pocillos libres se dispensaron 10µl, se golpearon levemente la placa de la paca para mezclar y homogenizar las muestras, posteriormente se cubrieron y se encubaron las placas por 1 hora a temperatura ambiente de 18- 26 °C.

Pasado la hora de incubación se eliminó el líquido sobrante de cada, en el último lavado se invirtieron las placas de Elisa IDEXX sobre el papel absorbente para no desprender partículas y se golpearon suavemente varias veces sobre el mismo papel para remover los remanentes del líquido.

Se agregaron 100 µl de conjugado diluido en cada pocillo con la ayuda de la micropipeta multicanal, se cubrieron y se encubaron a temperatura ambiente (18-26 °C) por 30 minutos. Finalizado el tiempo de encubación se volvieron a lavar los pocillos 3 veces y se invirtieron las placas de Elisa, golpear suavemente sobre el mismo papel para remover los remanentes del líquido.

Después haber realizado el lavado, se agregaron 100 µl de sustrato TMB N°13 en cada pocillo, se cubrieron y se encubaron a temperatura ambiente (18-26 °C) por 20 minutos lejos de la luz directa.

Para finalizar, encendieron el lector de Elisa (espectrofotómetro) para microplacas, con filtro de 450 nm (BioTek ELx808), 15 minutos antes de la lectura, se llevaron al espectrofotómetro

para medir la densidad óptica (D.O) de los controles y de las muestras, luego se imprimieron los resultados obtenidos que se emplearon con el software para el manejo de datos de ELISA.

En cada pocillo se administraron 190 µl de solución tampón de dilución N°2. Se dispersó 10 µl de control negativo no diluido. Se dispersó 10 µl de control positivo no diluido. Se dispersó 10 µl no diluido en el resto de pocillos. Se incubaron las placas por 1 hora a 26 °C (Incubación corta). luego se golpeó la placa sobre un material absorbente para poder eliminar el líquido sobrante, luego se procedió a eliminar el líquido y agregar la solución de lavado, golpeando la placa sobre un material absorbente para eliminar el líquido sobrante, se incubó a 26°C por 30 minutos. Luego se procedió a la medición de densidad óptica de muestras y controles, al finalizar se sacó los cálculos y mediciones de los resultados.

Se usaron las siguientes fórmulas para medición óptica de las muestras:

$$CNK \rightarrow XCNK = \frac{CNK1A(450) + CNK2A(450)}{2}$$

$$CPK \rightarrow XCPK = \frac{CPK1A(450) + CPK2A(450)}{2}$$

Los valores obtenidos de promedio de las muestras positivas y negativas para los sueros controles del kit en cada placa corrida, cumplieron los siguientes criterios para asegurar la

aceptación de los resultados de los controles y por tanto de las muestras analizadas en dicha placa.  $XCPK \geq 0,350$  y  $XCPK/XCNK \leq 3,00$ .

La fórmula usada para los resultados de la muestra:  $\% M/P = 100 \times \frac{Muestra A(450) - XCNK}{XCPK - XCNK}$

La interpretación se realiza base los resultados obtenidos en la relación M/P: M/P %  $\leq 110$  (negativo),  $110 < M/P\% < 120$  (dudoso) y  $M/P\% \geq 120$  (positivo).

Dato: CNK: Control negativo, CPK: Control positivo, XCNK= Promedio del control negativo, XCPK= Promedio del control positivo

### 3.4. ANÁLISIS DE DATOS

#### 3.4.1. PREVALENCIA APARENTE

Para obtener la prevalencia de anticuerpos contra brucelosis bovina en 5 hatos de Tournavista-Huánuco, se realizó la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{número de animales positivos}}{\text{total de animales de la muestra}} \times 100$$

#### 3.4.2. PREVALENCIA REAL

Para hallar la prevalencia real se necesita la sensibilidad y especificidad de la prueba tamiz (Rosa de bengala y ELISA).

Sensibilidad combinada ( $Se_c$ ).

$$Se_c = Se_A \times Se_B$$

Dónde:  $Se_A$ : Sensibilidad de la prueba tamiz

$Se_B$ : Sensibilidad de la prueba confirmatoria

Especificidad combinada ( $E_c$ ).

$$E_c = 1 - [(1 - E_A)(1 - E_B)]$$

Dónde:  $E_A$ : Especificidad de la prueba tamiz

$E_B$ : Especificidad de la prueba confirmatoria

Prevalencia real (Pr):

$$Pr = \frac{Pa + E - 1}{Se + E - 1}$$

### 3.4.3. INTERVALO DE CONFIANZA

Con un intervalo del 95% de confianza se pudo expresar la tasa de prevalencia, mediante esta fórmula:

$$I.C = p \pm \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

Siendo:

p = prevalencia

z = 95% nivel de confianza

q = 1-p

n = tamaño de muestra

Para la asociación de variables se usó la fórmula de chi-cuadrado:

$$X^2 = \sum \frac{(f_0 - f_e)^2}{f_e}$$

f<sub>0</sub>: Frecuencia del valor observado

f<sub>e</sub>: Frecuencia del valor esperado

#### **3.4.4. ANÁLISIS DE VARIABLES**

Se estimó la asociación entre la variable sexo , Categoría Zootécnica y hatos con la tasa de infección con el test de Rosa de Bengala y ELISA, con la prueba Chi-cuadrado.

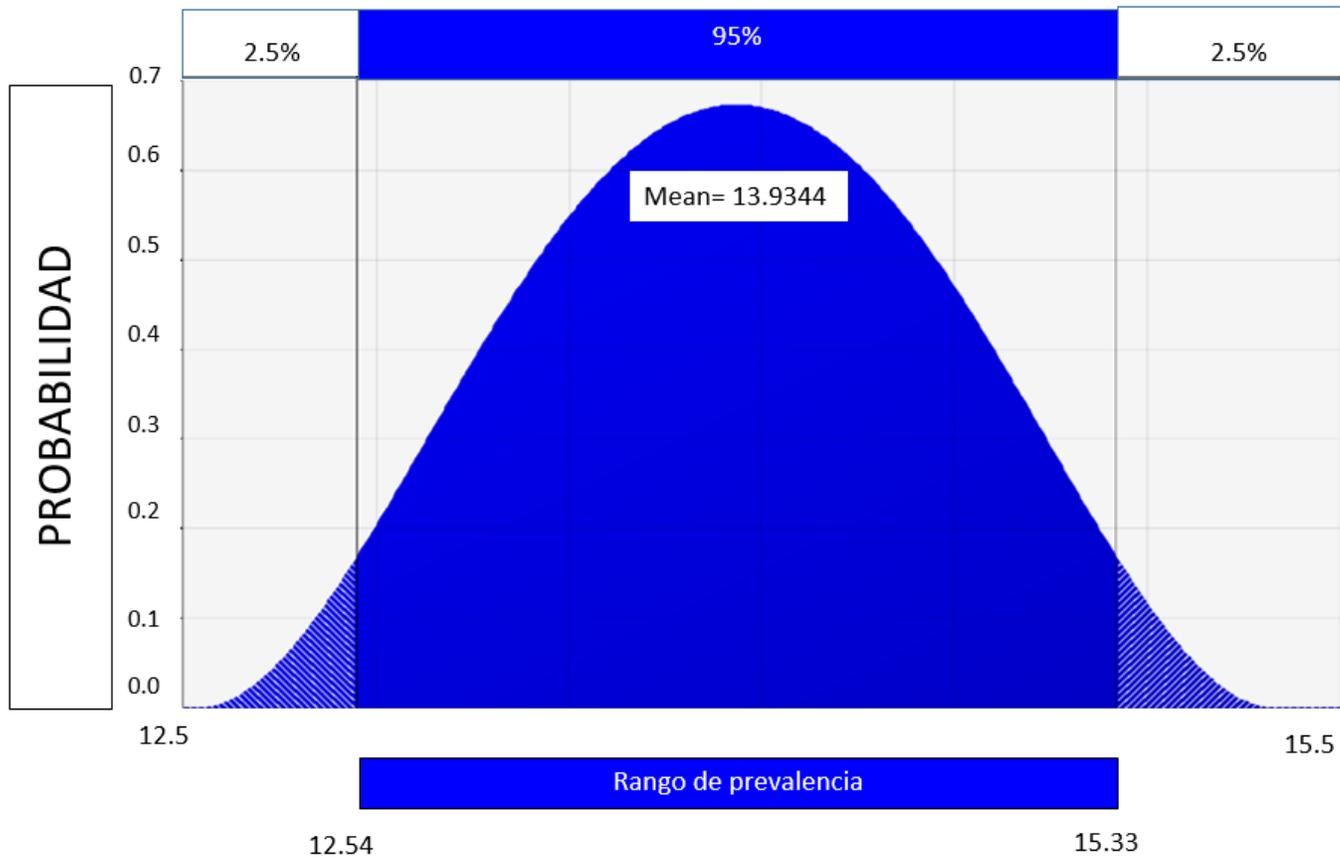
#### **IV. RESULTADOS**

El estudio se efectuó en 5 hatos pertenecientes al Distrito de Tournavista, Huánuco; siendo el total de muestras procesadas de 976 y se encontró una prevalencia aparente de brucelosis en bovinos mediante el test Rosa de Bengala de 14.75% y 13.93% de Elisa indirecta, siendo la prevalencia real para ELISA de 14.98%. Se agrupo según el hato (Cuadro 1), la edad (cuadro 2) y sexo (cuadro 3) frente a la prueba diagnóstica utilizada.

Los valores obtenidos fueron colocados en el programa de simulación @Risk, calculando la prevalencia media de 13.9344%; con una prevalencia mínima y máxima de distribución 12.541% y 15.328%, respectivamente (Gráfico. 1). Se obtuvo a partir de la distribución probabilística de la prevalencia, en el gráfico de simulación beta.

**Grafico 1. Distribución de la probabilidad de prevalencia de brucelosis bovina en 5 hatos del distrito de Tournavista-Huánuco, con 95% de confianza.**

Fuente: Elaboración propia



**Cuadro 1. Distribución porcentual de prevalencia de brucelosis en bovinos de 5 hatos del Distrito de Tournavista, Puerto Inca-Huánuco (n=976)**

Hatos	Total (n)	Positivos Rosa de Bengala (n)	% de positivos Rosa de Bengala	Positivos ELISA (n)	Seroprevalencia $\pm$ IC ELISA	Seroprevalencia Corregida ELISA $\pm$ IC
1	441	33	7.48	30	6.8 $\pm$ 2.22	3.96 $\pm$ 1.82
2	361	97	26.87	95	26.32 $\pm$ 4.54	24.29 $\pm$ 4.47
3	56	0	0	0	0	0
4	75	13	17.33	10	13.33 $\pm$ 7.69	10.76 $\pm$ 7.0.0
5	43	1	2.33	1	2.33 $\pm$ 0	-0.70 $\pm$ 0.0
Total	976	144	14.75	136	13.93 $\pm$ 2.503	11.39 $\pm$ 1.99

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 2. Distribución de los 5 hatos ganaderos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976), respecto a la seropositividad del test de campo (Rosa de Bengala).**

Rosa de Bengala	Hato 1	Hato 2	Hato 3	Hato 4	Hato 5	Total
Negativo	408	264	62	56	42	832
Positivo	33	97	13	0	1	144
Total	441	361	75	56	43	976

\*Asociación significativa por chi cuadrado ( $p < 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 3. Distribución de los 5 hatos ganaderos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976), respecto a la seropositividad de la prueba confirmatoria (ELISA).**

ELISA	Hato 1	Hato 2	Hato 3	Hato 4	Hato 5	Total
Negativo	3	2	3	0	0	8
Positivo	30	95	10	0	1	136
total	33	97	13	0	1	144

\*Asociación significativa por chi cuadrado ( $p < 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 4. Distribución porcentual de prevalencia de brucelosis bovina según categoría zootécnica en el Distrito de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976).**

Categoría Zootécnica	Total (n)	Positivos Rosa de Bengala	% de positivos Rosa de Bengala	Positivos Elisa (n)	Seroprevalencia $\pm$ IC ELISA	Seroprevalencia Corregida ELISA $\pm$ IC
Vaquilla	262	13	4.96	11	4.20 $\pm$ 2.55	1.25 $\pm$ 1.35
Vaquillona	17	1	5.88	0	0	0
Vaca	678	128	18.88	123	18.17 $\pm$ 2.92	15.80 $\pm$ 2.75
Toro	19	2	10.53	2	10.53 $\pm$ 18.28	7.29 $\pm$ 11.69
Total	976	144	14.75	136	13.93 $\pm$ 18.46	11.39 $\pm$ 1.99

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 5. Distribución de los animales en Categorías Zootécnicas de los 5 hatos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976), respecto a la seropositividad de la prueba Rosa de Bengala.**

Rosa de Bengala	Vaquilla	Vaquillona	Vaca	Toro	Total
Negativo	249	16	550	17	832
Positivo	13	1	128	2	144
Total	262	17	678	19	976

\*Asociación significativa por chi cuadrado ( $p < 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 6. Distribución de los animales en Categorías Zootécnicas de los 5 hatos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976), respecto a la seropositividad de la prueba de ELISA.**

ELISA	Vaquilla	Vaquillona	Vaca	Toro	Total
Negativo	2	1	5	0	832
Positivo	11	0	123	2	144
Total	13	1	128	2	976

\*Asociación significativa por chi cuadrado ( $p < 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 7. Distribución porcentual de la prevalencia de brucelosis bovina según sexo en el Distrito de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco (n=976).**

Sexo	Total (n)	Positivos Rosa de Bengala	% de positivos Rosa de Bengala	Positivos ELISA(n)	Seroprevalencia $\pm$ IC ELISA	Seroprevalencia Corregida ELISA $\pm$ IC
Hembra	957	142	14.84	134	14.02 $\pm$ 2.2	11.48 $\pm$ 2.02
Macho	19	2	19.53	2	10 $\pm$ 13.5	7.29 $\pm$ 11.69
Total	976	144	14.75	136	13.93 $\pm$ 24.8	11.39 $\pm$ 14.29

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 8. Distribución de los animales según sexo de los 5 hatos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco, (n=976), respecto a la seropositividad de la prueba Rosa de Bengala.**

Rosa de Bengala	Hembra	Macho	Total
Negativo	815	17	832
Positivo	142	2	144
Total	957	19	976

\*No existe asociación significativa por chi cuadrado ( $p > 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 9. Distribución de los animales según sexo de los 5 hatos de Tournavista, Puerto Inca, Huánuco, (n=976), respecto a la seropositividad de la prueba de ELISA**

ELISA	Hembra	Macho	Total
Negativo	8	0	8
Positivo	134	2	136
Total	142	2	144

No existe asociación significativa por chi cuadrado ( $p > 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

#### IV. DISCUSIÓN

El resultado de prevalencia aparente de brucelosis bovina fue de 14.75% (144/976) y 13.93% (136/976), siendo la prevalencia real 14.98%, utilizando el test Rosa de bengala y ELISA como test final. Mostrando una prevalencia relativamente alta comparado a otros estudios y reportes del país respecto a la enfermedad en cuestión (Cárdenas 2000; Meza, 2010; Zavala, 2011; SENASA, 2017). Además, para este reporte se utilizó el programa de simulación @Risk buscando mayor precisión en el reporte determinó la prevalencia media de 13.9344%, y una prevalencia mínima y máxima de 12.541% y 15.328%, respectivamente (Grafico 1).

La prevalencia según los hatos, se reporta entre 0% y 26,32%; donde el Hato 2 presenta la mayor prevalencia (Cuadro 1), esto se podría deber al tipo de manejo que realiza este productor, pues realiza un continuo intercambio de reproductores sin un debido control sanitario, lo cual podría representar una amenaza para la diseminación de la bacteria como lo reporta Robles (2003); esta característica de intercambio de animales (vacas, toros, terneros) se debe a la preocupación de los ganaderos de no generar endogamia entre sus animales, poniendo en riesgo sanitario a sus hatos. Por otro lado, el Hato 3 resulto negativo a la presencia de animales positivos a la enfermedad, resultado que podría estar relacionado al tipo de manejo utilizado por el ganadero, cuya principal característica es de mantener un hato cerrado y un manejo reproductivo exclusivamente por inseminación artificial; evitando el riesgo que representa el uso de la monta natural como sistema de reproducción (Hernández y Ortega, 2009). Estos resultados (Cuadro 2 y 3), son apoyados por la determinación de la

asociación de tipo significativa ( $p < 0.05$ ) entre las variables hatos ganaderos y la seropositividad a la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

La evaluación de prevalencia según Categoría Zootécnica, se reporta una mayor prevalencia en el grupo de vacas (18.17%) y toros (10.53%) (Cuadro 4); animales adultos que presentan mayor posibilidad de ser contagiados debido a diferentes factores como: siendo la transmisión sexual una vía principal de contagio y estos al estar en actividad reproductiva favorecen esta enfermedad, es de tipo crónica por lo que a mayor edad mayor será la posibilidad de contacto con la bacteria vía oral y sexual (Martínez *et al.*, 2011; Díaz, 2003). Además, se reporta asociación significativa ( $p < 0.05$ ) mediante la prueba de chi cuadrado, entre la variable edad y positividad, corroborando estos mayores índices de prevalencia reportados (Cuadro 5 y 6).

Por otro lado, el presente estudio es el primer trabajo de investigación en el distrito de Tournavista, donde no se han realizado un control de la enfermedad estudiada con la metodología indirecta o serológica siendo la más usada el test de campo rosa de bengala y para la confirmación se usa la prueba de ELISA, todos los animales que salgan positivo a la prueba serán beneficiados en los mataderos cercanos a los hatos con la enfermedad (SENASA, 2018). En hatos con animales positivos donde la enfermedad persiste los animales de mayor edad tienen la probabilidad de infectar al resto de la población refiriéndose a las vacas y toros (Zambrano *et al.*, 2016).

La prevalencia según el sexo, se reporta en machos 10.53% y hembra 14.02% de positividad, resultando un índice mayor de positividad en hembras (Cuadro 7); sin embargo, esta diferencia no es significativa ( $p < 0.05$ ), por lo que esta diferencia numérica debe ser circunstancial mostrando un riesgo a la enfermedad de forma indistinta (Hernández y Ortega, 2009; Díaz, 2003; Magope *et al.*, 2011); esto es corroborado por (Rodríguez *et al.* 2005), quienes reportan que los toros no contaminados con la bacteria tienen un porcentaje bajo de poder infectarse en la monta (Cuadro 8 y 9).

El presente estudio utilizó los criterios definidos de forma oficial en el país, a pesar que este programa está implementado únicamente para las principales cuencas lecheras del país, vinculadas únicamente para el ganado lechero.

Finalmente, la prevalencia alta de la enfermedad representa un riesgo en la salud pública y amenaza a la salud animal, respecto a la salud animal cursan signos como infertilidad, abortos en los últimos meses de la hembra gestante y en salud pública podría producir la fiebre de mediterráneo o fiebre de malta, debido al consumo de leche no pasteurizada o derivados lácteos contaminados con la bacteria. En la localidad de estudio no se tiene un programa sanitario de diagnóstico y reporte, por lo que, a la evidencia de estos resultados, existe un subdiagnóstico de la enfermedad y su impacto en la ganadería de la región.

## VI. CONCLUSIÓN

La prevalencia aparente de brucelosis bovina en los 5 hatos del distrito de Tournavista es de 13.93% y prevalencia real de 14.98%. Existiendo asociación significativa ( $p < 0.05$ ) entre la positividad a la infección por *Brucella abortus* y las variables hato y edad.

## VII. RECOMENDACIONES

- Controlar el tránsito de reproductores en el distrito de Tournavista con las medidas de control sanitarias necesarias para la declaración libre de la enfermedad que norman la ley correspondiente de SENASA.
- Considerar tener mayores hatos cerrados para no introducir animales infectados.
- Se debe efectuar un programa de capacitación a los ganaderos sobre las consecuencias de esta enfermedad por ser carácter zoonótico.
- Los animales reactivos al test de campo (Rosa de Bengala) o al test confirmatorio (ELISA), someterlos a un nuevo examen, si dan positivos nuevamente se destinan para el camal.

### VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Acha P, Szyfres B. Brucelosis Bovina, Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Rev Panam Salud Públ 2001. 3(2): 28-53.
2. Acosta M, Ortiz M. Pruebas diagnósticas en brucelosis bovina Perú. Rev Perú Biol 2014. 12(1): 1-6.
3. Anderson M, Andrianarivo A, Conrad P. Neosporosis in cattle. Anim Reprod Sci 2000. 60(1): 417-431.
4. Anderson M, Reynolds J, Rowe J, Sverlow K, Packham A, Barr B, Conrad P. Evidence of vertical transmission of Neospora sp. infection in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc 1997. 210 (1): 1169-1172.
5. Aréstegui M, Gualtieri C, Domínguez J, Scharovsky G. El Género *Brucella* y su interacción con el Sistema Mononuclear Fagocítico. Rev Med Vet 2001. 32(02): 1-9.
6. Ávila J, Cruz H. Enfermedades abortivas Clínica de los Bovinos 1. Rev Fac Med 2009. 1(2): 1-8.
7. Aznar M, Samartino L, Humblet M, Saegerman C. Bovine brucellosis in argentina and bordering countries: update. RevTransbound Emerg Dis 2014. 61(2): 121-33.
8. Basso W, Venturini M, Venturini D, Hill O, Kwok S, Shen J, Dubey J. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. J Parasitol 2001. 87 (1): 612-618.

9. Beltrán D, Castro L, Navarro D. Prevalencia de *Brucella sp.* en trabajadores de la planta de beneficio animal de la ciudad de Ipiales Nariño. Tesis de Postgrado en Gerencia de Salud Pública. Nariño: Univ CES. 2011. 52.
10. Blasco J. Brucelosis animal: la enfermedad y medidas para su control y Erradicación. En: Manual de brucelosis. Junta de Castilla y León España. 2002. 31-43.
11. Bofill P, Rivas A, Ramírez W. Brucelosis. En: Manual de Enfermedades Infecciosas. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional. 1996. 2(1):60- 84.
12. Brough H, Solomon A, Wall R, Isaza F, Pasvol G. Brucellosis acquired by eating imported cheese. J Pediatr Child Health 2011. 47(1): 840-890.
13. Cantero J, Mon J, Cravero S, Samartino L, Conde S, Gutiérrez G, Rovira T, Gil A, Piaggio J, Nuñez A, Romano M. Desarrollo de un nuevo diagnóstico serológico para brucelosis bovina utilizando LPS y cadena o de LPS de *Brucella abortus*. Rev Med Vet 2011. 35 (367): 1-10.
14. Cárdenas J. Seroprevalencia de *B. abortus* en bovinos de la provincia de Tambopata-Madre de Dios. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Uni Nac Mayor de San Marcos. 2000.28.
15. [BCRP] Banco Central de Reserva del Perú. Caracterización del Departamento de Pasco: Características Socioeconómicas. Pasco: serie de informes técnicos. 2018. 1-16.
16. Castro H, González S, Prat M. Brucelosis: una revisión práctica. REDALYC 2005. 39 (2): 203-216.
17. Córdova A, Reyes A, Espinoza R, Guerra J, Inzunza J, Villa E, Méndez M, Huerta Juárez L, Gómez A, Cancino G, Méndez W, Oliveros J, Velásquez V, Sánchez P. Importancia de la Brucelosis bovina y consecuencias económicas para el ganado. Bm Eds 2016. 78(1): 18-24.

18. Corbel M. Brucellosis in humans and animals. WHO Library Cataloguing 2006. 23(32):102.
19. Corbel J, Morgan J. Manual of Diagnostic and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter Genus *Brucella*. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 1<sup>a</sup> ed. Krieg NR Holt JG. 2009. 388.
20. Cloeckaert A, Vizcaíno N, Paquet J, Bowden R, Elzer P. Major outer membrane proteins of *Brucella spp.* past present and future. Vet microbiol 2002. (90):229-245.
21. Chauca M. Prevalencia de leptospirosis bovina en 2 distritos de la provincia de Puno-Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 2008. 51.
22. Diario Oficial El Peruano. Decreto supremo N° 033-2000-AG. 2000. Aprueban reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina. 190048-190051.
23. Díaz C. Manual de Enfermedades Infecciosas en el Ganado Bovino de la Zona Central del Litoral Ecuatoriano. Ecuador: Quevedo. 2003. 55.
24. Dubey J. Review of *Neospora caninum* and neoporiasis in animals. Korean J Parasitol 2003. 41(1) :1-16.
25. Durán F. Complemento Manual del Ganadero Actual. 1<sup>a</sup> ed. Colombia: Grupo Latino Editores. 2012. 1000- 1100.
26. England T, Kelly L, Jones D, MacMillan A, Wooldridge A. simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing regimes. Prev Vet Med 2004. 63(2): 63-73.
27. Estein S. Brucelosis: inmunidad y vacunación. REDVET 2006. 8(5): 1-25.
28. [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación. Fundación para la lucha contra la Fiebre Aftosa de Entre Ríos. Paraná. [Internet], [18 octubre 2018]. 2003. Disponible en:<http://www.fucofa.comm/prensa/articulo.asp?this.article.id=2454692.56>.

29. Fensterbank R. Brucelosis Bovina, Ovina, Caprina: Diagnostico, control y vacunación. *Med Vet* 1986.13(1): 620-632.
30. Fernández C, Nikolich R, Vemulapalli N, Sriranganathan S, Boyle G, Schurig T, Hadfield D. Deletion of wboA enhances activation of the lectin pathway of complement in *Brucella abortus* and *Brucella mellitensis*. *Infect Immun*. 2001. 69(7): 4407-4416.
31. Fernández E, Gómez F. MEDICINA TROPICAL Brucelosis. *Rev Med Cost R y Cen Am XVII* 2009. 67 (590) 399-404. *Food Animal Practice* 1995. 11(1): 521-547.
32. Forestier C, Deleuil F, Lapaque N, Moreno E, Gorvel J. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a downregulator of T cell activation. *J Immunol* 2000. 165(9): 5202-5210.
33. García C. La brucelosis de los animales en América y su relación con la infección humana 7° ed. Francia: Office Internacional Epizootias. 1987. 303.
34. García G, Ramírez B, Hernández E, Orozco H, Hernández L y Jiménez J. Brucelosis: condición socioeconómica familiar y calidad de la vida en dos zonas contrastantes del estado de Tlaxcala, México. *Rev Estud Soc* 2013. 21 (41): 241-259.
35. Garrido M, Garrido A. Género *Brucella*. eds. *Manual de Microbiología Veterinaria*. España: McGraw-Hill Interamericana. 1ª ed. 2002. 275-292.
36. Golding B, Scott D, Scharf O, Huang L, Zaitseva M, Lapham C, Eller N, Golding H. Immunity and protection against *Brucella abortus*. *Microbes Infect* 3 2001. 43(3): 43-48.
37. Guamán M. Neosporosis bovina. Tesis de Médico Veterinario. Cuenca: Univ de Cuenca. 2011. 89.
38. Guzmán I, E Andrews, A González, R Rivers, A Cabrera, A Oñate. Una vacuna ADN para la brucelosis bovina. Resúmenes del XIII Congreso Chileno de Medicina Veterinaria. Chile. 2004.

39. Guzmán R, Contreras A, Ávila E, Morales M. Brucelosis: zoonosis de importancia en México. *Rev Chil Infectol* 2016. 33(6): 1-46.
40. Hernández J, Ortega A. Manual de inseminación artificial en bovinos. Tesis de Médico Veterinario. Veracruz: Univ Veracruzana. 2009. 52.
41. Houe, H. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Animal Practice* 1995. 11(1): 521-547.
42. Huamán C. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina, y animales persistentemente infectados con el virus, en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Arequipa. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 2006. 89.
43. [ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. Colombia declara libre de Brucelosis y Tuberculosis Bovina a su frontera con Perú. [Internet], [28 de octubre 2018]. 2018. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/El-ICA.aspx>
44. [ICA] Instituto Colombiano Agropecuario Métodos de diagnóstico de brucelosis. [Internet], [28 de octubre 2018]. 2018. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Enfermedades-Animales/Brucelosis-Bovina-1/Pruebas-para-el-Diagnostico-deBrucelosis.aspx>
45. INEI [Instituto Nacional de Estadística e Informática]. IV Censo Nacional Agropecuario. [Internet], [12 octubre 2018]. 2012. Disponible en : [http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/?fbclid=IwAR1heLGawIVLS\\_bqB-bbnA0TO4ed1rHBwXms8IVsKtnRRTaL5lfLFOXdMSWs](http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/?fbclid=IwAR1heLGawIVLS_bqB-bbnA0TO4ed1rHBwXms8IVsKtnRRTaL5lfLFOXdMSWs).
46. [INIFAP] Instituto Nacional de Investigaciones Forestares, Agrícolas y Pecuarias. Prevención de Brucelosis en Rumiantes: manual de capacitaciones. México: Folleto técnico n°2. 2011. 46 p.
47. Kirkbride C. Laboratory diagnosis of livestock abortion. *J Am Vet Med Assoc* 1990.58(9): 67-260.
48. López A y Contreras A. Género *Brucella*. *Scand J Infect Dis* 2004. 36(8): 636.

49. Lucero N, Ayala S, Escobar G, Jacob N. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect.* 2008.136(4):496-503.
50. MacMillan A. Conventional Serological test, *Animal Brucellosis*. CRC Press 1990. 45(2):153-197.
51. Maldonado C. Sintomatología de la Brucelosis bovina por grupos Etarios. Tesis de Médico Veterinario y zootenista. Trujillo: Univ Antenor Orrego. 2007. 65.
52. Matope G, Bhebhe E, Muma J, Olaya J, Madekurozwa R, Lund A, Skjerve E. Seroprevalence of brucellosis and its associated Risk factors in cattle from smallholder dairy farms in Zimbabwe. *Top Anim Health Prod* 2011. 43(4): 975-982.
53. Martínez D, Peniche A y Hernández S, Abeledo A, Barradas F, Villanueva M. Evaluación de la cepa S19 *Brucella abortus*, en el control de la brucelosis bovina en Actopan, Veracruz. *Rev salud anim* 2011. 33(1): 1-7.
54. Marin R, Ramos S, Luciani M, Odeón A, Brihuega B, Spath E, Campero C. Relevamiento Seroepidemiológico de enfermedades que afectan la reproducción en la provincia de Jujuy. *Vet Arg* 2011. 28(280): 51.
55. Mendoza E. inmunología de brucelosis bovina, Perú, Latin America Veterinary Conference. 2018.
56. Meza A. Seroprevalencia de Brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca-Huánuco. Tesis Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 2010. 38.
57. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. Perú va camino a superar el nivel del consumo de leche por persona. [Internet], [29 octubre 2018]. 2017. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal/noticiasanteriores/notas-2017/19322-peru-va-camino-a-superar-el-nivel-actual-de-consumo-de-leche-por-persona>.

58. [MINSA] Ministerio de Salud. Población estimada por edades simples y grupos de edad, según provincia y distrito departamento de Huánuco. [Internet], [29 octubre 2018]. 2016. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Poblacion/PoblacionMarcos.asp?10>
59. [MINAG] Ministerio de Agricultura. Dirección General de Sanidad Animal SENASA. Decreto Supremo N° 033-2000-AG. Reglamento para el control y erradicación de la brucelosis bovina. Diario Oficial “El Peruano”, publicado el lunes 10 de julio de 2000.
60. Miranda A. Principales enfermedades de los bovinos del este de la Pampa y factores de riesgos asociados a su presentación. Tesis Doctoral. Buenos Aires: Univ Nac del Centro de la Provincia de Buenos Aires. 2011. 169.
61. Moral M, Laplume H, Sardi F, Jacob N, Garro S, Lucero N, Reynes E, López G, Samartino, Amiotti P, Casas N. Enfermedades infecciosas brucelosis Diagnostico de Brucelosis. Rev Argent Microbiol 2013.12(1): 1-58.
62. Moreno E, Moriyón I. *Brucella melitensis*: a nasty bug with hidden credentials for virulence. Proc Nat Acad Sci 2002. 99(1): 1-3.
63. Mosquera O, Freitez R y Rumbos A. Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis Bovina en la Parroquia Buria, Municipoo Simón Planas. Rev Med Urug 2009.14(2): 1-51.
64. Murphy E, Robertson G, Parent M, Hagius S, Roop R, Elzer P, Baldwin C. Major histocompatibility complex class I and II expression on macrophages containing a virulent strain of *Brucella abortus* measured using green fluorescent protein-expressing brucellae and flow cytometry. FEMS. Immunol Med Microbiol 2002. 33(3): 191-200.
65. [MTC ] Ministerio de transportes y telecomunicaciones. Plan vial de la provincia de Puerto Inca, 2004. 4- 120.

66. Nicoletti P. Utilization of the card test in brucellosis eradication. J Am Vet Med Assoc 1967. 151(1): 1778-1781.
67. Nicoletti P. Vaccination against *Brucella*. J Am Vet Med Assoc. 1990. 13(1): 283-299.
68. Nielsen K. Diagnostic of brucellosis by serology. Vet Microbiol 2002. 90(1): 447-459.
69. Nielsen k, Smith P, Widdison J, Gall D, Kelly I, Kelly W, Nicoletti P. Serological discrimination by indirect enzyme immunoassay between the antibody response to *Brucella sp.* and *Yersinia enterocolitica* O:9 in cattle and pigs. Vet Microbiol 2004. 100(2): 25-30.
70. Noroña G, Pozo M. Determinación de Brucelosis bovina (*Brucella abortus*) con la prueba rosa de bengala en la asociación “unión libre” de la parroquia 10 de agosto provincia de Pastaza. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Latacunga: Univ Técnica de Cotopaxi. 2011. 130.
71. Odeón M y Romero S. Estrés en Ganado: causas y consecuencias. Rev Vet 2017. 28(1): 69-77.
72. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Mundial. Manual de diagnóstico serológico de la brucellosis bovina. Argentina: series de Informes Técnicos. 2009. 95.
73. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Mundial. Brucelosis. [Internet], [9 de noviembre 2018]. 2018. Disponible en: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-losanimales/brucelosis/>
74. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Mundial. Ántrax. Institute for Inteternational Cooperation in Animal Biologics Francia. 2010. 4.
75. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Mundial. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: series of technical reports. 2004. 622.

76. Oliveira S, Splitter G. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection. Iran J Immunol 1996. 14(10): 959-962.
77. Olsen S, Christie R, Jainger D, Stoffregen W. Immunologic responses of bison to vaccination with *Brucella abortus* strain RB51: comparison of parenteral to ballistic delivery via compressed pellets or photopolymerized hydrogels. Vaccine. J Am Vet Med Assoc 2006. 24(9): 53-1346.
78. Ortega M, Valdezate S, Saez J. Diversidad genética de *Brucella* en España. Vet Microbiol 2013. 55(14): 38-42.
79. Padrón O, Martínez D, Peniche A, López L. Historia de la Brucelosis. Rev Med Mex 2011. 24 (2): 26-30.
80. Paiva R. Prevalencia de brucelosis bovina, Perú, Latin America Veterinary Conference. 2018.
81. Paredes S. Determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, recinto cristal de Lelia. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Santo Domingo: Esc Pol del Ejército Departamento de Ciencias de la Vida. 2012. 129.
82. Peña A, Cervini J, Padilla L, Delgadillo J. Prevalencia de brucelosis bovina en la región de producción lechera de Jalisco. Rev Ibe Ci 2014. 1 (2): 245-252.
83. Puray N, Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos 2006.194.
84. Quinn P, Markey B, Carter M, Donnelly W, Leonard F. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. 1ª ed. Zaragoza: Acribia SA. 2002. 203.
85. Ramos J, Bernal E, Esguevillas T, López P, Gaztambide M, Gutiérrez F. Non-imported brucellosis outbreak from unpasteurized raw milk in Moroccan immigrants in Spain. Epidemiol Infect 2008. 136 (11): 51552.

86. Reyes J. Seroprevalencia e incidencia de *Brucella sp* en vacunadores del Programa para el control bovina en el Departamento de Antioquia. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnia. Antioquia: Univ de Antioquia. 2015. 46.
87. Ríos J. Enfoques integrales de producción ganadera en la amazonia peruana. Rev Latinoam Prod Animal 2007, 15(1): 234-240.
88. Rivadeneira J. Complejo Respiratorio Bovino. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnia. Cuenca: Univ de Cuenca. 2012. 150.
89. Rivera, H. Etiología infecciosa del aborto bovino. Rev Inv Vet Perú Supl 2003(1): 95-99.
90. Rivera A, Pérez B, Rojas X, Wojoiechowski E, Pino C, Nielsen K. Ensayo de validación de la prueba de fluorescencia polarizada para el diagnóstico de brucelosis bovina. Rev BVO. 2004. 1 (2): 1-3.
91. Rivera R, Andrews E, González-Smith A, Donoso G, Oñate A. *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. Rev Med 2006. 38 (1): 7-18.
92. Robles C. Antecedentes de Brucelosis Bovina. Rev INTA 2003. 9(5): 10.
93. Rodríguez V, Ramírez S, Antúnez S, Pérez B, Ramírez P, Igarza P. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológico. REDVET 2005. 6(9): 1-9.
94. Rodríguez M, Solera J, Sánchez L, Álvarez M. Brucelosis, aspectos patogénicos. Clínica, diagnóstico, tratamiento y formas específicas de enfermedad. Rev Med 1998. 7 (79): 3651-3658.
95. Rodríguez A, Orduña A, Ariza X, Moriyon I, Díaz R, Blasco J, Almaraz A, Martínez F, Ruiz C, Abad R. Manual de Brucelosis. Rev Med 2001. 38(1): 1-139.
96. Rondón L. Diarrea viral bovina: patogénesis e inmunopatología. Rev MVZ Córdoba 2006. 11(1): 694-704.

97. Saldarriaga A, Ossa E, Rugeles T. Respuesta inmune y estrategias de evasión durante la infección con *Brucella spp.* Rev Col Cien Pecu. 2002. 15 (2): 180-187.
98. Samartino L, Schust M, Piazza E, Salustio E, Conde S. Diagnóstico de la brucelosis animal: implementación de nuevas tecnologías Arch Latinoam Prod Anim 2007. 143(15)20-23.
99. Samartino L. Métodos convencionales de diagnóstico y su uso actual, métodos de avanzada, sus aplicaciones y perspectivas Seminario Taller de Zoonosis bacterianas de impacto para los países de América Latina. Redvet 2004. 7(4):13-20.
100. Samartino L. Brucelosis bovina 2do Simposio Internacional de Brucelosis Villahermosa, REDVET 2003.41(2): 1-13.
101. Sbriglio L, Sbriglio H, Sainz S. Brucelosis: Una patología generalmente subdiagnosticada en humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. Rev Bio 2007(13): 18-22.
102. Scharf O, Agranovich I, Lee K, Eller N, Levy L, Inman J, Scott D, Golding B. Ontogeny of Th1 memory responses against a *Brucella abortus* conjugate. Infect Immun 2001. 69(4): 5417-5422.
103. [SENASA] Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Regiones. [Internet], [18 de noviembre 2018]. 2018. Disponible: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/category/regiones/>
104. SENASA] Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Ucayali: inicia campaña de detección y control de brucelosis bovina. [Internet], [18 de noviembre 2018]. 2017. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/ucayali-inicia-campana-dedeteccion-y-control-brucelosis-bovina/>
105. [SINAVE] Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Manual para la vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis. Informe técnico. México. 2013. 45.

106. Torioni S. Respuesta inmune de organismos intracelulares. Rev Med 2015. 152(1): 1-4p.
107. Wyatt. H. Royal Navy Surgeons and the transmission of brucellosis by goats milk. Rev Naval Med Serv 1999. 85(1):112-117
108. Young E. *Brucella spp.* En: Gillespie SH y Hawkey PM eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology 2<sup>da</sup> Ed. Inglaterra. John Wiley & Sons. 2005. 265-271.
109. Zacarías, E. Seroprevalencia del Virus de la Rinotraqueitis infecciosa bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos.2002. 37.
110. Zambrano M, Pérez M, Rodríguez X. Brucelosis bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Rev Investig Vet 2016. 27(3): 6-15
111. Zavala I. Presencia de Brucelosis bovina en el distrito de Codo del Pozuzo, Huánuco. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos Lima. 2011. 50.
112. Zhan Y, Kelso A, Cheers C. Differential activation of *Brucella*-reactive CD4+ T cells by *Brucella* infection or immunization with antigen extracts. Infect Immun 1995. 63(3): 969-975.