



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**Diagnóstico de la prevalencia de Brucelosis bovina en los hatos ganaderos  
mediante la prueba serológica (Rosa de bengala) en el distrito de Pardo  
Miguel - Naranjos**

**Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario**

**AUTOR:**

**Jagner Maslucán Golac**

**ASESOR:**

**Med. Vet. Hugo Sánchez Cárdenas**

**CO – ASESOR:**

**Ing. M.Sc. Harry Saavedra Alva**

**Tarapoto – Perú**

**2018**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**




**Diagnóstico de la prevalencia de Brucelosis bovina en los hatos ganaderos  
mediante la prueba serológica (Rosa de bengala) en el distrito de Pardo  
Miguel - Naranjos**


**AUTOR:**

**Jagner Maslucán Golac**

**Sustentada y aprobada el día 20 de diciembre de 2018, por los siguientes jurados**




.....  
Dr. Orlando Ríos Ramírez  
Presidente



.....  
Ing. Zoot. Roberto Edgardo Roque Alcarraz  
Secretario



.....  
Ing. Zoot. Justo German Silva Del Águila  
Miembro



.....  
Méd. Vet. Hugo Sánchez Cárdenas  
Asesor

## Declaración de Autenticidad

Yo, Jagner Maslucán Golac, egresado(a) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Escuela Profesional de MEDICINA VETERINARIA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 47553969, con la tesis titulada: **“Diagnóstico de la prevalencia de brucelosis bovina en los hatos ganaderos mediante la prueba serológica (Rosa de bengala) en el distrito de Pardo Miguel – Naranjos”**.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), **falsificación** (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndonos a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 20 de diciembre del 2018



Jagner Maslucán Golac

DNI N° 47553969





**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres: Masluccán Golac Zagner	
Código de alumno : 121905	Teléfono: 988778791
Correo electrónico : Zagner.masluccan@hotmail.com	DNI: 47553969

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de: Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de: Medicina Veterinaria

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	<input checked="" type="checkbox"/>	Trabajo de investigación	<input type="checkbox"/>
Trabajo de suficiencia profesional	<input type="checkbox"/>		

**4. Datos de trabajo de investigación**

Título: Diagnóstico de la prevalencia de Brucellosis bovina en los hatos ganaderos mediante la prueba serológica (Rosa de Bengala) en el Distrito de Pardo Miguel Narajón
Año de publicación: 2018

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	<input checked="" type="checkbox"/>	Embargo	<input type="checkbox"/>
Acceso restringido **	<input type="checkbox"/>		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:


**6. Originalidad del archivo digital**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

## 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.

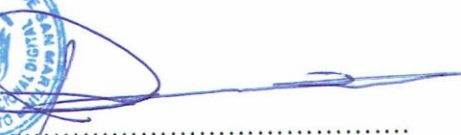
  
.....  
Firma del Autor

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T.

Fecha de recepción del documento:

08/05/2019



  
.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM-T.

\***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).  
\*\***Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **Dedicatoria**

Con mucho amor cariño y afecto a mis queridos padres, Zoilo Maslucan Chasquibol y Emerita Golac Mas, por su gran apoyo moral y material que me brindaron para poder culminar mi carrera profesional.

A Dios, por su infinita gracia y haberme dado salud e inteligencia para poder avanzar una etapa de mi vida.

A mis hermanos quienes fueron mi apoyo y guía en todo momento, además a todas las personas que de una forma u otra me ayudaron.

Un reconocimiento muy especial a mis profesores y amigos que día a día supieron compartir sus más valiosos conocimientos.

## **Agradecimiento**

- ❖ Agradezco a Dios por su inmensa misericordia y haberme guiado en toda mi vida estudiantil.
- ❖ A mis queridos padres y hermanos por su apoyo incondicional.
- ❖ A la UNSM-T y los docentes de la E.A.P. de Medicina Veterinaria, por su contribución en mi formación profesional.
- ❖ A los ganaderos del distrito por su apoyo incondicional durante el trabajo de campo.
- ❖ A mis compañeros y amigos quienes han vivido mis alegrías y tristezas, mostrando su comprensión y apoyo incondicional en todo momento para hacer realidad este sueño.
- ❖ A la Clínica Veterinaria Mundo Animal por su apoyo incondicional durante el trabajo y procesamiento de muestras serológicas, en el interior de su laboratorio.



## Índice general

	<b>Página</b>
<b>Dedicatoria</b>	vi
<b>Agradecimiento</b>	vii
<b>Resumen</b>	xi
<b>Abstrac</b>	xii
<b>Introducción</b>	1
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
1.1. Antecedentes en el Perú	4
1.2. Definición	6
1.3. Sinonimia	6
1.4. Etiología	7
1.5. Morfología	8
1.6. Reservorios naturales	8
1.7. Factores de riesgo	9
1.8. Transmisión	9
1.9. Resistencia	10
1.10. Epidemiología	11
1.11. Periodo de incubación	11
1.12. Patogenia	11
1.13. Signos clínicos	13
1.13.1. En hembras gestantes	13
1.13.2. En animales machos	13
1.13.3. En humanos	13
1.14. Hallazgos a la necropsia	14
1.15. Inmunidad frente a brúcela	14
1.15.1. Inmunidad natural	14
1.15.2. Macrófagos	15
1.15.3. Neutrófilos	15
1.15.4. Células natural killer	15
1.15.5. Complemento	16
1.15.6. Linfocitos	16
1.16. Diagnostico	17
1.17. Diagnóstico diferencial	17
1.18. Técnicas de diagnóstico	18
1.18.1. Diagnostico por serología	18
1.19. Prueba de diagnóstico serológico	18
1.19.1. Prueba de aglutinación rápida en placa	18
1.20. Tratamiento en animales	19
1.21. Tratamiento en humanos	19
1.22. Prevención	19
1.23. Control y erradicación	20
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>21</b>
2.1. Ubicación del lugar de investigación	21
2.2. Materiales	21
2.3. Equipos	21
2.4. Reactivo	22
2.5. Métodos	22
2.5.1. Tipo y nivel de investigación	22

2.5.2. Diseño de investigación	22
2.5.3. Población y muestra	23
2.5.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos	24
2.5.5. Técnica de procedimientos y análisis de datos	25
2.5.6. Métodos estadísticos	25
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>26</b>
3.1. Resultados	26
3.1.1. Prevalencia total	26
3.1.2. Prevalencia por edad	26
3.1.3. Prevalencia por grupos raciales	27
3.1.4. prevalencia por sexo	27
3.1.5. Prevalencia por etapa productiva	28
3.1.6. Prevalencia por sectores	28
3.2. Discusión	29
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>31</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>32</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>39</b>

## Índice de Tablas

## Página

<b>Tabla 1.</b> Supervivencia de brucelosis en el medio ambiente	10
<b>Tabla 2.</b> Diagnóstico de la prevalencia de <i>Brucelosis bovina</i> mediante la prueba serológica Rosa de Bengala en el distrito de Pardo Miguel – Naranjos (Julio – diciembre 2017)	26
<b>Tabla 3.</b> <i>Brucelosis bovina</i> por edad (Julio – Diciembre 2017)	26
<b>Tabla 4.</b> <i>Brucelosis bovina</i> por raza (Julio – Diciembre 2017)	27
<b>Tabla 5.</b> <i>Brucelosis bovina</i> por sexo (Julio – Diciembre 2017)	27
<b>Tabla 6.</b> <i>Brucelosis bovina</i> por etapa productiva (Julio – Diciembre 2017)	28
<b>Tabla 7.</b> <i>Brucelosis bovina</i> por habitad (Julio – Diciembre 2017)	28

## Resumen

El presente proyecto de investigación se desarrolló entre los meses de Julio a Diciembre de 2017, para conocer el grado de difusión y prevalencia de Brucelosis bovina en los hatos ganaderos, del distrito de Pardo Miguel, Provincia de Rioja Departamento de San Martín, mediante la prueba serológica Rosa de Bengala se determinó el tamaño de muestra en base al registro del censo agropecuario 2012 donde indica que existe alrededor de 4004 cabezas de ganado vacuno en dicho distrito, que están distribuidos en diferentes localidades, de los cuales aplicando una fórmula se analizó 135 bovinos, a partir de esta muestra y con una probabilidad de casos positivos de 10% y casos negativos de 90%, con margen de error del 5% y nivel de confianza de 95%, se evidencia que no existe prevalencia de Brucelosis bovina en el distrito de Pardo Miguel y que no está relacionado con la edad, raza, sexo, etapa reproductiva y habitad. Los sueros fueron procesados en una clínica veterinaria del distrito. Es importante mencionar que en un sector hubo casos positivos en humanos (zoonosis), pero es posible que no fue por la prevalencia de ganado bovino.

Palabras clave: Brucelosis bovina, hatos ganaderos, rosa de Bengala, censo agropecuario, cabezas de ganados, etapa reproductiva, ganado bovino.



## Abstract

The following research project was developed from July and December 2017 to know the degree of diffusion and prevalence of bovine brucellosis in livestock herds at Pardo Miguel district, Province of Rioja Department of San Martín. By means of Rosa de Bengala serological test, the sample size was determined based on the registration of the 2012 agricultural census, which indicates that there are about 4004 head of cattle in said district, which are distributed in different localities, from which a formula is applied. analyzed 135 cattle, from this sample and with a probability of positive cases of 10% and negative cases of 90%, with margin of error of 5% and confidence level of 95%, it is evident that there is no prevalence of bovine brucellosis in the Pardo Miguel district and that is not related to age, race, sex, reproductive stage and habitat. The serum was processed at a district veterinarian. It is important to mention that in one sector there were cases positive in humans (zoonoses), but it is possible that it was not due to the prevalence of cattle.

Keyword: Bovine brucellosis, livestock herds, Rosa de Bengala, agricultural census, head of cattle, reproductive stage, cattle.



## Introducción

La Región San Martín, actualmente tiene una población de ganado vacuno de 228,826 cabezas, que representa el 2% de la población Nacional y cuya producción de leche durante los últimos cinco años se ha ido incrementando conforme se fueron ejecutando programas de incentivo a la ganadería lechera. Según cifras de campo proporcionadas por la cadena de lácteos, los datos obtenidos en producción lechera en el departamento de San Martín en el año 2002 eran alrededor de la 15000 T.M/año, es decir unos 50000 Lt/leche/día. En la actualidad se tiene el reporte de producción de 19499 TM/año, lo que quiere decir un aproximado de 53422 Lt/leche/día (de ganaderos organizados). Sin duda la desaparición de los programas sociales ha hecho que disminuya la producción de leche los datos obtenidos por el censo agropecuario 2012.

La crianza del ganado vacuno en la Región San Martín es semi-extensiva y en menor porcentaje extensiva; por ello se tiene una diversidad de cruces y calidad genética con mayores predisposiciones al ganado criollo y cebuinos con diferentes grados de mestizaje (holstein y Brown swiss). De toda la población 228826 cabezas de ganado vacuno 85000 son mejorados mediante el cruce con otras razas. El mejoramiento genético en los últimos años se está dando mediante la inseminación artificial con ganado lechero apta para la región como es el gyr lechero entre otras razas europeas, en mayor porcentaje de los ganaderos hacen mejoramiento genético mediante la monta natural, por otra parte hay ganaderos que están apostando por el ganado de carne como el brahmán aptos y rústicos para el pastoreo bajo temperaturas del trópico (censo agropecuario 2012).

La brucelosis es una enfermedad que tiene importancia en la producción y reproducción de varias especies pecuarias, a más de la relevancia sanitaria por ser una enfermedad zoonótica, también conocida como “Fiebre de Malta”, o “fiebre ondulante” en los humanos, y como “enfermedad de Bang” o “aborto contagioso”, en animales es una infección bacteriana altamente contagiosa causada por bacterias del género *Brucella*<sup>1</sup>.

La Brucelosis es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) como la zoonosis más persistente en todo

el mundo, pertenece a la lista B, de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizootias <sup>1,2,3,4</sup>.

La brucelosis es una zoonosis cuya incidencia y prevalencia varían de un país a otro. La infección causada por la especie *Brucella abortus* es la que frecuentemente afecta al ganado bovino, causando esterilidad en machos y abortos en hembras preñadas, lo que conduce a graves pérdidas económicas en países en los que es endémica. En países no desarrollados constituye además un problema sanitario para la población humana <sup>5</sup>.

La Brucella es una bacteria Gram negativa, que no forma esporas, es tan corta que frecuentemente se confunde con los cocos, posee una envoltura celular característica: la membrana externa, la membrana interna y un espacio periplásmico intermedio <sup>6</sup>.

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 el faenamiento de ganado, al entrar en contacto con animales infectados y para la población que consume productos contaminados (leche y derivados) <sup>7</sup>.

Posee una alta prevalencia en los llamados países en vías de desarrollo, donde las condiciones sanitarias son deficientes, los sistemas de explotación animal son de tipo tradicional, y no existen sistemas de seguimiento epidemiológico adecuado de la enfermedad <sup>8</sup>.

En la actualidad esta zoonosis ha tomado mucha importancia en Salud Pública ya que, cada día hay reportes de personas que han contraído la enfermedad, y se estiman que a nivel mundial se producirían entre 400 y 500 mil nuevos casos, así mismo es una importante causa de caída de la producción en bovinos lo que en países en desarrollo, merma notablemente los medios de subsistencia de los productores, la transmisión al ser humano, debida casi siempre al consumo de leche cruda de animales infectados, provoca en las personas una grave enfermedad debilitante <sup>9</sup>.

En el distrito de Pardo Miguel – Naranjos se ve muchos casos de aborto fetal, causando pérdidas económicas al ganadero, aún no se han realizado investigaciones a gran escala sobre la frecuencia de esta enfermedad, desde el punto de vista de salud pública es

importante tener en cuenta que la Brucelosis bovina es una enfermedad zoonótica y como tal se debe tomar los recaudos necesarios para prevenir el contagio a las personas.

En la presente investigación se formuló la siguiente pregunta: ¿Cuál es la Prevalencia de la Brucelosis Bovina respecto sexo, raza, etapa productiva y habitat en hatos ganaderos del distrito de Pardo Miguel Naranjos?, se planteó la siguiente hipótesis: Existe relación entre la prevalencia de Brucelosis bovina respecto raza, sexo, etapa productiva y habitat, utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa (Rosa de Bengala) en el distrito de Pardo Miguel Naranjos.

La importancia de esta investigación radica, en el diagnóstico de la prevalencia de brucelosis que con la información obtenida se va a canalizar a las autoridades competentes, conociendo que la brucelosis causa reducción en la producción de leche entre 20 a 25%; 20 % a abortos 30% de mortalidad de terneros (0 a 12 meses); esterilidad 10% y el peso de 20% de pérdida económica de 10 a 15%. Como la brucelosis no se transmite por lo general de una profilaxis de ser humano a otro <sup>10</sup>. Los resultados obtenidos servirán para realizar estudios epidemiológicos que van a ser de interés en el proceso investigativo, y así llegar a prevenir, controlar y erradicar la enfermedad, obteniendo mayores réditos económicos a los ganaderos de esta manera contribuir al control de esta zoonosis.

Esta investigación tiene como objetivo principal Diagnosticar la Prevalencia de Brucelosis Bovina en los hatos ganaderos mediante la prueba serológica (Rosa de Bengala) en el Distrito de Pardo Miguel Naranjos.

Como objetivos específicos es: Determinar la Prevalencia de Brucelosis Bovina según las variables sexo, raza, etapa productiva y habitat; Verificar el porcentaje de los hatos ganaderos expuestos a *Brucella abortus* mediante la prueba serológica Rosa de Bengala; Zonificar la situación epidemiológica de la *Brucella abortus* en el distrito de Pardo Miguel - Naranjos.



# CAPÍTULO I

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Antecedentes en el Perú

Meza C.Alan; Morales C.Siever; Ara G. Miguel; Calle E. Sonia. (2010). Seroprevalencia de brucelosis bovina en el Distrito de Puerto Inca, Huánuco. El estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia de brucelosis en bovinos de crianza extensiva en el distrito de Puerto Inca, provincia de Puerto Inca, departamento de Huánuco, en el año 2007. Se colectaron muestras de sangre de 3221 animales para el diagnóstico de *Brucella* sp mediante la prueba de aglutinación Rosa de Bengala. No se encontraron reactores positivos, y con el programa @Risk de simulaciones estocástica de distribución beta se calculó una prevalencia media de 0.031% con rangos de 0.0008 a 0.1144%. La baja prevalencia permitiría implementar un programa de erradicación de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca <sup>11</sup>.

Valdivia .P; Rivera G. (2003). El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Brucella*. sp. En ganado criollo de la provincia de Parinacochas, Ayacucho, Perú. Las muestras de suero fueron colectados de vacas y novillas de 24 manadas (n = 385) ubicadas en 4 distritos (Chumpi, Coracora, Puyusca y Pullo), para detectar anticuerpos contra *Brucella* sp. Prueba de aglutinación de rosa de bengala. No se encontraron animales seroreactores lo que indica que el área es libre de *brucella* sp. Tendría una prevalencia inferior al 4,87%. Los resultados Puede deberse al efectivo programa de vigilancia realizado por las autoridades sanitarias, sobre el movimiento interno de los animales, así como las condiciones climáticas prevalecientes y la reproducción sistema, que puede ser adverso a *Brucella* sp <sup>12</sup>.

Huguete T. Carmen; Delgado C. Alfredo; Calle E. Sonia; Gonzales Z. Armando. (2005). El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Brucella* sp. en el ganado bovino de la provincia de Canta, Lima, mediante la detección de anticuerpos en suero a través de la prueba inicial de Rosa de Bengala y la de Fijación de Complemento como prueba confirmatoria. Se procesaron 486 muestras de suero en toda la provincia encontrándose un animal positivo a *Brucella* sp. en el

distrito de Santa Rosa de Quives, lo que significó una prevalencia de 0.21% con intervalo de confianza mínimo de 0.09 y máximo de 0.60%. Los resultados indican una baja prevalencia, lo que permitiría implementar un programa de erradicación de brucelosis bovina en la provincia de Canta <sup>13</sup>.

Fernandez M. Arturo. (2002). El presente estudio se realizó en la provincia de Leoncio Prado en los distritos de: José Crespo Castillo, Rupa Rupa, Padre Felipe Luyando, Mariano Oámaso Beraúm, Daniel Alomías Robles y Hermilio Valdizán; con el objetivo de determinar la seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos lecheros en etapa de lactación, mediante la prueba de aglutinación en placa. En el estudio se utilizaron 275 muestras de suero sanguíneo de una población en riesgo de 1,364 vacas, los animales estudiados fueron de las razas Holstein, Brown Swiss y Cruzadas, de 1 o al 8° parto. El resultado obtenido en la seroprevalencia de *Brucella abortus* en la provincia de Leoncio Prado fue 0.29% ( $P < 0.05$ ). Se concluye que la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia es  $< 1\%$ . Por lo tanto debe realizar vigilancia epidemiológica estricta para no incrementar la brucelosis bovina en los ganaderos de la provincia de Leoncio Prado <sup>14</sup>.

Espinoza L. Paulo. (2018). 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 campaña 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 reactivos positivos. Palabra Clave: Brucelosis bovina, prueba de rosa de bengala, prevalencia <sup>15</sup>.

Zavala D. Imelda; Morales C. Siever; Huaman U. Hector; Angulo J. Carlos. (2011). En base a un diagnóstico circunstancial de dos casos de brucelosis en un

hato bovino del distrito de Codo del Pozuzo, Huánuco, se llevó a cabo un estudio de prevalencia de *Brucella* sp. En 5439 bovinos entre abril a junio de 2007. Dos bovinos resultaron positivos a la prueba de Rosa de Bengala, pero negativos a la prueba confirmativa de Fijación del Complemento. El modelo de simulaciones estocásticas de distribución beta mostró una prevalencia de 0.02% con intervalo de confianza mínimo de 0 y máximo de 0.06% <sup>16</sup>.

## 1.2. Definición

La brucelosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa aguda o crónica producida por la bacteria *Brucella abortus* que afecta, principalmente al ganado bovino, ovino, caprino canino, equino en hembras en edad reproductiva, provocándoles abortos y al hombre. Los machos también pueden infectarse y la enfermedad se manifiesta con pérdida de la fertilidad debido a orquitis y epididimitis <sup>17</sup>.

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 de ganado, al entrar en contacto con animales infectados y para la población que consume productos contaminados (leche y derivados) <sup>7</sup>.

Las pérdidas económicas en América Latina y los EEUU. Se han estimado por sus respectivos gobiernos en aproximadamente 700 millones de dólares anuales. La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) han ayudado a los países donde la infección es endémica, mediante la formación de medidas de control, el proporcionar capacitación y materiales de referencia; centrado la investigación coordinada sobre los problemas que se plantean en estos programas <sup>18</sup>.

## 1.3. Sinonimia

Las enfermedades causadas por las Brucellas han recibido múltiples denominaciones, de las que anotamos algunas:

- Fiebre ondulante
- Fiebre de malta
- Fiebre del mediterráneo
- Aborto contagioso
- Enfermedad de Bang
- Brucelosis melitococcica o fiebre ondulante de malta
- Brucelosis mediterránea
- Fiebre melitensis
- Fiebre de traum
- Fiebre caprina
- Fiebre sudoralis <sup>1</sup>

#### 1.4. Etiología

La enfermedad del ganado vacuno es causada exclusivamente por ***B. Abortus*** <sup>19</sup>.

***Brucella abortus*** es la causante de Brucelosis Bovina, y está representada por siete biovares. En América Latina se ha verificado la existencia de los biovares 1,2,3,4 y 6 sin embargo, el biovar 1 es el responsable de más del 80 % de casos de brucelosis bovina reportados en la región <sup>20</sup>.

La brucelosis es causada por especies de *Brucella*, que es un intracelular facultativo Gram-negativos patógeno bacteriano de muchas especies de vertebrados, incluyendo al hombre. Es una de las zoonosis bacterianas más comunes en todo el mundo y plantea una grave amenaza para la salud humana, la salud animal y la producción animal <sup>21</sup>.

Se han registrado infecciones por esta bacteria en la mayor parte de especies, pero con frecuencia sólo se observan en bovinos que pueden tener cualquier edad, pero la infección persiste solamente en animales adultos; se ha registrado también un aborto en una oveja, en equinos se ha encontrado con frecuencia el microorganismo en agrandamientos bursales crónicos, donde se hallan en calidad de invasor secundario y no de patógeno primario <sup>21</sup>.



## 1.5. Morfología

El género *Brucella* está formado por bacterias gran negativas, que se observan al microscopio como cocobacilos de 0,5 a 0,7  $\mu\text{m}$  de diámetro y de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$  de largo, intracelulares facultativos, inmóviles y aerobios, no formadores de esporas<sup>22</sup>. Poseen membrana externa e interna que encierran un espacio periplásmico con peptidoglicano (PG) y otras proteínas. La membrana externa de *B. abortus* es altamente hidrofóbica y resistente a péptidos catiónicos y detergentes. Al igual que otras bacterias Gram negativas, tienen lipopolisacáridos (LPS) en esta envoltura. Dependiendo de la presencia o ausencia de la cadena O del LPS se denominan lisa (S-LPS por smooth) o cepa rugosa (R-LPS por rough) debido a su apariencia morfológica. Existen especies de *Brucella* naturalmente rugosas (*B. canis* y *B. ovis*) y hay cepas mutantes rugosas de las especies lisas (*B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*)<sup>22, 23</sup>.

El género Brúcela posee un genoma con un rango que oscila, dependiendo de la especie de, 2.37 a 2.82 por 10E9 daltons<sup>22</sup>.

## 1.6. Reservorios naturales

Una hembra infectada es el medio más importante para la diseminación de la enfermedad, tanto para el rebaño al que pertenece como para otros rebaños donde sea movilizado el animal<sup>19</sup>.

Varias especies de *Brucella* han sido aisladas de una gran variedad de animales tales como bovinos, caprinos, ovinos, suinos, camélidos, perros, roedores y recientemente en mamíferos marinos como los cetáceos y pinnípedos. Entre estas la *Brucella abortus*, el agente causal de la brucelosis bovina, es una de las especies de mayor distribución mundial y junto con la *B. melitensis* y *B. suis*, las que mayor riesgo representan para la salud humana<sup>24</sup>.

## 1.7. 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.

Entre las profesiones que poseen alto riesgo de contaminación, están las relacionadas con el campo o agro, médicos veterinarios, ingenieros zootecnistas, trabajadores agrícolas, trabajadores de camales o mataderos, así como el personal de laboratorio <sup>23</sup>.

La infección se produce a cualquier edad y persiste solo en animales sexualmente maduros, una pequeña proporción 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 <sup>25</sup>.

## 1.8. Transmisión

La fuente primaria de infección está representada por las hembras grávidas que, al abortar o parir, expulsan grandes cantidades de esta bacteria con el feto, el líquido amniótico y las membranas fetales. La vía de penetración más importante es la oral, debido a la ingestión de agua, pastos, forrajes y contaminados <sup>24, 26, 27</sup>.

La enfermedad se transmite por la ingestión, penetración por la conjuntiva, a través de la piel o por contaminación de la ubre durante el ordeño.

El pastoreo en áreas contaminadas, el consumo de agua contaminada con secreciones, membranas fetales infectadas y el contacto con fetos abortados o neonatos, se consideran las formas más frecuentes de propagación. Existe una transmisión congénita provocada por la infección dentro del útero, y si el feto no

muere, puede permanecer latente toda su vida en la ternera; esto se explica por el fenómeno de tolerancia inmunológica: el animal da pruebas serológicas negativas en su primer parto, momento en el cual comienza a desechar el microorganismo. La transmisión horizontal suele presentarse por la contaminación directa y la infección por moscas, perros, ratas, garrapatas, calzado, ropa y otros objetos infectados; esto no se considera de importancia, comparado con el número de microorganismos desechados en abortos, membranas y líquidos fetales <sup>26</sup>.

El trasplante de embriones no tratados en forma adecuada, también puede constituir una fuente de infección <sup>27</sup>.

### 1.9. Resistencia

En cuanto a la resistencia las especies del genero *Brucella* son bastante sensibles a los desinfectantes comunes, a la luz y a la desecación, en cadáveres o tejidos contaminados enterrados, pueden resistir vivos por unos dos meses en clima frío, mas mueren en 24 horas en verano o regiones calientes. La pasteurización las mata y por tanto, también la ebullición <sup>24</sup>.

#### **Tabla 1.**

Supervivencia de brucelosis en el medio ambiente.

<i>Material</i>	<i>Tiempo de supervivencia</i>
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluídos y secreciones en verano	10-30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37 °C y pH 7,5	menos de 1 día
Agua a 8 °C y pH 6,5	más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6-8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8 °C	1-2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1-100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días.

Fuente: (Romero R. 2013).

### **1.10. Epidemiología**

Esta enfermedad es de gran importancia en salud humana, por tratarse de una zoonosis. En humanos, la infección ocurre por consumo de leche contaminada sin pasteurizar, además de que es de tipo ocupacional, ya que se observa en granjeros, veterinarios y carniceros que manejan animales o productos contaminados con la bacteria. La infección afecta en todas las edades, pero persiste mayormente en animales sexualmente maduros, en los que las pérdidas de productividad pueden ser de gran importancia, principalmente por el descenso de la producción láctea. La infertilidad como secuela aumenta el periodo entre lactancias y el promedio entre partos, que puede prolongarse durante varios meses. En vacas destinadas a la producción de carne tiene gran importancia económica, ya que los becerros representan la única fuente de ingresos. Lo mismo ocurre por desecho de vacas, tanto en hatos lecheros como en productores de carne y en los casos de muertes por metritis aguda seguida de retención placentaria<sup>27</sup>.

Se observa la concentración más elevada de *Brucella* en el contenido del útero gestante, en el feto y en las membranas fetales; estructuras que deben considerarse como fuentes importantes de la infección<sup>27</sup>.

### **1.11. Periodo de incubación**

El periodo de incubación es de 30 a 60 días; sin embargo, la infección en el ganado se caracteriza por adoptar una forma crónica. Entre los factores que favorecen su presentación se considera la edad, sexo, la etapa de gestación, la vía de infección, la resistencia del hospedador y la persistencia de la infección. Una vez infectados, los animales excretan las bacterias durante los procesos de aborto o parto, llegándose a encontrar en cantidades de hasta 10 millones de *Brucellas/g* en órganos del feto abortado, placenta, exudado vaginal, calostro y leche<sup>28</sup>.

### **1.12. Patogenia**

Entre la tercera y la quinta semana se produce la bacteremia, la cual puede durar de 1 día hasta 4 semanas, por lo general son sólo 2. Luego las bacterias se localizan en

el tracto reproductivo en útero y placenta (si hay preñez) y los ganglios adyacentes a estos órganos. Si el animal no está preñado la bacteria se ubica en ubre y sus ganglios adyacentes <sup>29</sup>.

*Brucella abortus* es una bacteria intracelular facultativa, que puede crecer y sobrevivir en los macrófagos y células epiteliales, también se ha observado que en cepas virulentas tienen una capa proteica protectora en su exterior, que les permite vivir dentro de las células y producir infecciones generalizadas crónicas. La *B. 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 provoca 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, pudiéndose aislar del feto cultivos puros del tubo digestivo y de los pulmones. El aborto puede producirse en los tres últimos meses de gestación. Posterior al parto o al aborto, el microorganismo no persiste mucho tiempo, permaneciendo algunos días hasta que desaparece <sup>23, 17</sup>.

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 testículo <sup>17</sup>.

Los hatos susceptibles llegan a etapas críticas cuando la mayoría de las vacas se infectan y abortan. Esta etapa se puede prolongar por un año o más hasta llegar a una resistencia parcial y abortan. Dicha resistencia depende de la inmunidad celular, sustentada en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas que no confiere inmunidad; los linfocitos T específicos responden a los antígenos de *B. Abortus* y producen linfocitos que, a su vez, activan a los macrófagos hasta el punto de eliminar a la bacteria instalada intracelularmente, de los que deduce que este no es

un proceso inmediato, sino que puede tardar cierto tiempo, por lo que algunas vacas pueden abortar dos o tres veces. A medida que la tasa de abortos disminuye, ésta se limita a primerizas y a los animales nuevos en el rebaño <sup>30</sup>.

### **1.13. Signos clínicos**

#### **1.13.1. Hembras gestantes**

La *B. abortus* penetra en las células epiteliales del corion y se reproduce, causando placentitis, produce endometritis con ulceración de la capa epitelial que reviste al útero. Causa lesiones placentarias características macroscópicamente hay inflamación que lleva a la necrosis cotiledónaria y proliferación de tejido conectivo de granulación, con fibrosis y adherencias de los cotiledones a la carúncula materna. En el corion ínter cotiledóneo hay edema con progresivo agrandamiento placentario, con exudado de líquido viscoso y adherente de color acastañada. Microscópicamente se encuentran en el útero focos inflamatorios granulomatosos con células epiteliales con el alrededor de un halo linfoplasmocitario <sup>29</sup>.

#### **1.13.2. Animales machos**

El proceso de virilización que ocurre en el macho es un fenómeno que da las condiciones propicias para la infección de *Brucella*, ya que los andrógenos y la vitamina D y progestágenos constituyen sustancias orgánicas de acción conjunta en el 1 orden de virilización, la combinación de todas estas hormonas en el macho ofrecen las mismas características que la progesterona en la hembra gestante <sup>31</sup>.

La *Brucella* tiene cierto tropismo a situarse en el aparato genital masculino (testículo, epidídimo principalmente). La razón de este fenómeno está basada en los mismos hechos que deciden el tropismo brucelar hacia la placenta, como apoyo a tal afirmación la riqueza en carbónico del epidídimo y tejido testicular, así como el metabolismo hidrocarbonado de la glándula testicular y riqueza en vitamina C <sup>31</sup>.

#### **1.13.3. Humanos**

Los síntomas más característicos son fiebre, pérdida de peso, escalofríos, sudores, cefaleas, anorexia, fatiga, astenia, mialgias y artralgias. Aunque a veces la enfermedad puede cursar en forma subclínica. Los síntomas se presentan

generalmente a las 2-3 semanas posteriores a la infección pero en algunos casos pueden aparecer más tarde. Ocasionalmente, predominan los síntomas comprometidos con un órgano en particular y en ese caso la enfermedad se considera localizada o con complicaciones. Las complicaciones osteoarticulares, ocurren en el 30-40 % de los casos e incluyen artritis, sacroileítis, bursitis y espondilitis <sup>4</sup>.

#### **1.14. Hallazgos a la necropsia**

En vacas gestantes se encuentra placentitis necrosante y endometritis ulcerativa, reacciones inflamatorias en tejidos fetales abortados, en rara ocasión se realiza la necropsia en animales adultos. Los hallazgos en fetos incluyen: presencia de líquido serohemorrágico en cavidades y subepidermis, así como bronconeumonía acompañada de congestión, exudado fibrinoso e infiltración celular. En machos las vesículas seminales y el epidídimo pueden estar engrosados con áreas de inflamación intersticial crónica y necrosis del epitelio tubular de las vesículas. El epidídimo presenta granulomas con infiltración de células linfoides, plasmáticas y epitelios que rodean a las células gigantes, algunos granulomas se calcifican. Las membranas basales de muchos túbulos quedan engrosadas con la evidencia ocasional de la supresión de espermatogénesis. En varios órganos fetales se observan lesiones granulomatosas y necrosis focal, así como leptomeningitis granulomatosa. La placenta presenta edema.

Histológicamente la enfermedad se caracteriza por infiltración leucocitaria, y en glándula mamaria observamos mastitis intersticial difusa leve con acumulación de linfocitos y células plasmáticas <sup>30</sup>.

#### **1.15. Inmunidad frente a brúcela**

##### **1.15.1. Inmunidad natural**

El ingreso de *Brucella* en el organismo induce la activación de los mecanismos de la respuesta innata para reducir el número inicial de bacterias promoviendo una respuesta Th1 en el hospedador. Los macrófagos, los neutrófilos, las células asesinas naturales (NK) y el complemento juegan un rol clave en esta fase

temprana de la respuesta a la invasión frente a este microorganismo. Los receptores tipo Toll (TLR) también desempeñan un papel importante en el inicio de la respuesta inmune innata. Estos receptores presentes en las células fagocíticas profesionales reconocen productos microbianos uniéndose directamente a ellos e inducen señales intracelulares que activan factores de transcripción (como NF- $\kappa$ B) que modulan la producción de citoquinas <sup>30</sup>.

### **1.15.2. Macrófagos**

Estas células juegan un rol central en la respuesta inmune frente a *Brucella*, ya que actúan como células fagocíticas profesionales y como células presentadoras de antígenos. Procesan antígenos en sus compartimentos intracelulares y los presentan en el contexto del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, a linfocitos T <sup>30,31</sup>.

### **1.15.3. Neutrófilos**

Los neutrófilos están implicados en el desarrollo de una defensa temprana frente a una infección por *Brucella* mediante la fagocitosis y posterior destrucción del microorganismo. En primer lugar, los neutrófilos son atraídos al sitio de infección por estímulos químicos originados o derivados del organismo para posteriormente fagocitar la bacteria <sup>33</sup>.

Una vez que el patógeno es fagocitado, se desarrolla una serie de mecanismos destructivos en el neutrófilo, con el fin de eliminar la bacteria, mediante el aumento del consumo de oxígeno que lleva a la aparición del radical superóxido peróxido de hidrógeno y otros radicales derivados del oxígeno, junto con la activación de la mieloperoxidasa <sup>28,29</sup>.

### **1.15.4. Células natural killer**

Forman parte de la primera línea de defensa contra *Brucella*, y una vez que son activadas pueden eliminar células infectadas, ya que la bacteria puede impulsar la actividad lítica de las células asesinas, estimulando la producción de interleuquina – 12 (IL – 12) por parte de las células presentadoras de antígenos <sup>33</sup>.



### 1.15.5. Complemento

El complemento tiene un papel muy importante en la defensa contra *Brucella* cuando ésta se encuentra en el compartimiento extracelular y en bajo número. Después de la entrada de *Brucella* al organismo, se activa el complemento por la vía alterna. Sin embargo, se ha demostrado que esta vía es incapaz de eliminar la cepa virulenta de *Brucella abortus*. Por otro lado, la activación de la vía clásica se inicia con la presencia de bajas concentraciones de anticuerpos IgM e IgG anti-LPS, y la vía de las lectinas, mediada por la proteína fijadora de manosa, también se puede activar, lográndose de esta forma la lisis bacteriana<sup>33</sup>.

### 1.15.6. Linfocitos T CD4+ y CD8+

Después de la activación de los macrófagos, las células T inmaduras (Th0) se diferencian de células efectoras y de memoria, que están programadas para secretar distintos patrones de citoquinas<sup>31</sup>.

### 1.15.7. Linfocitos T $\gamma\delta$ . las células T $\gamma\delta$

Representan una pequeña población de linfocitos, con un patrón único de reconocimiento de antígenos. En humanos, las células T  $\gamma\delta$  controlan el aumento en el número de microorganismos ya que secretan interferón (TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), después de ser activadas por antígenos no peptídicos, en su mayoría fosfoantígenos, los cuales no son presentados en el contexto del MHC. Mediante la secreción de estas citoquinas, activan la función bactericida de los macrófagos y, además, son capaces de lisar células infectadas por citotoxicidad directa in vitro. El rol de estas células in vivo, aún no ha sido determinado. Aunque se cree que son parte de la inmunidad innata. En bovinos menores de un año, la población celular predominante es la de células T  $\gamma\delta$  y no la de células T  $\alpha\beta$ , lo que sugiere que el rol de este tipo celular es más significativo en la infección del ganado con brucelosis. De todas maneras, en bovinos, la producción de IFN- $\gamma$  por estas células es menor que la producida por las células CD4+<sup>30, 31, 32</sup>.

### 1.15.8. Linfocitos B

Los primeros anticuerpos que se generan en el curso de una infección son de clase IgM, seguidos de IgG e IgA. Se ha comprobado que tanto IgM como IgG, en bajas

concentraciones, son capaces de promover la lisis de *Brucella* a través de la vía clásica del complemento. También se han encontrado títulos elevados de IgG anti-SOD Cu-Zn en animales infectados. Pueden aparecer, dentro de la clase IgG, anticuerpos bloqueantes o no aglutinantes, también llamados asimétricos, en especial en infecciones crónicas, donde suelen alcanzar títulos elevados. Estos anticuerpos se diferencian de los anticuerpos completos en ciertas propiedades tanto in vitro como in vivo, por ejemplo, la incapacidad de activar complemento por cualquiera de las vías o dar adecuadas reacciones de aglutinación<sup>34</sup>.

### **1.16. Diagnóstico**

El diagnóstico de la brucelosis animal se basa en el uso de pruebas de laboratorio directas para el aislamiento bacteriológico o pruebas indirectas para la demostración de respuestas serológicas o celulares específicas. Sin embargo, sólo las pruebas directas confirman la presencia de la infección ya que en el resto de los test la presencia de Ac o la existencia de una respuesta celular en un determinado animal no significa necesariamente que éste sufra una infección activa por *Brucella* spp., pero la normativa que regula los programas de erradicación determina que todos los animales positivos a alguna prueba diagnóstica oficial, al igual que todos los que tuvieron contacto directo o indirecto con éste, deben ser considerados sospechosos<sup>35, 36</sup>.

### **1.17. Diagnóstico diferencial**

Se debe considerar las siguientes enfermedades abortivas:

- Leptospirosis.
- Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR).
- Tricomoniasis.
- Campilobacteriosis.
- Listeriosis.
- Aborto epizoótico (espiroquetosis).
- Vibriosis<sup>36</sup>.

## 1.18. Técnica de diagnóstico

### 1.18.1. Diagnóstico por serología

El diagnóstico serológico es de elección para diagnosticar Brucelosis Bovina, porque se han desarrollado técnicas de laboratorio de suficiente especificidad y sensibilidad a un bajo costo y rapidez de realización que las hace muy adecuadas a esta función. Existen numerosas pruebas para el diagnóstico serológico de brucelosis: aglutinación en placa, en tubos, antígeno bufferado en placa (BPA), Rosa de Bengala, fijación del complemento, 2 mercaptoetanol, rivanol, ELISA indirecto y de competición, prueba de anillo en leche, de hipersensibilidad, test de polarización<sup>37</sup>.

Se basan en el principio de aglutinación de los anticuerpos con antígenos a pH bajo y se dividen en dos tipos de pruebas: las pruebas primarias o de screening y las pruebas secundarias o de confirmación<sup>7</sup>.

## 1.19. Prueba de diagnóstico serológico

### 1.19.1. Prueba de aglutinación rápida en placa “rosa de bengala”(RB)

También llamada prueba del antígeno tamponado por la capacidad de mantener estable un pH determinado. La prueba “Rosa de Bengala” (RB), es una reacción de aglutinación sobre lámina, que utiliza por un lado un antígeno constituido de una suspensión de *B. abortus* (cepa 19) inactivadas y coloreadas por Rosa de Bengala, en un medio tamponado (pH  $3,5 \pm 0,05$ ), y por otro lado el suero a investigar<sup>8</sup>.

Fueron Pietz&Schilf quienes en 1967 desarrollaron este antígeno acidificado tamponado estable<sup>37</sup>.

Los resultados se reportan en forma cualitativa más no cuantitativa de aglutinación, por medio de cruces. Por su fácil realización, es muy útil como prueba de despistaje inicial o “screening”<sup>38,39</sup>.

Esta prueba es capaz de detectar anticuerpos de tipo IgM e IgG, aunque el pH ácido, permite una alta detección de las IgG1, reduciendo las uniones inespecíficas con otras inmunoglobulinas<sup>39</sup>.

### 1.20. Tratamiento en animales

No existe tratamiento, *Brucella abortus* es una bacteria intracelular facultativa, lo que le confiere cierta protección ante la presencia de antibióticos dentro del hospedador, por lo que se considera una enfermedad incurable, los esfuerzos se orienta a la prevención y erradicación de la enfermedad. En consecuencia, la prescripción, es que los hatos sospechosos deben ser inspeccionados a intervalos regulares hasta que todos los animales resultan negativos. Los animales positivos deben ser descartados. La vacunación contra la Brucelosis Bovina aplicada de manera sistemática y masiva elimina el 80% de la enfermedad, según lo demuestra la experiencia nacional e internacional<sup>40</sup>.

### 1.21. Tratamiento en humanos

La cronicidad puede ser debida a que la Brucella es un organismo hábil para sobrevivir y multiplicarse dentro de las células del sistema de defensa del cuerpo. Esto explica la tendencia de esta enfermedad a tener un curso clínico prolongado con recaídas que van del 4 al 41%. En pediatría se necesita la administración prolongada de antimicrobianos para obtener la curación. Las recidivas por lo común no dependen de la generación de resistencia por parte de Brucella, sino más bien de la interrupción prematura del tratamiento<sup>40</sup>.

### 1.22. Prevención

**La Vacuna Cepa-19.-** Esta vacuna, que ha servido de base en todos los programas de erradicación de la brucelosis bovina en varios países es un cultivo vivo de Brucellas, cada dosis contiene entre 10-60 x 10<sup>9</sup> CFU, se presenta comercialmente en forma liofilizada. La presencia de lipopolisacaridos (LPS) con una cadena 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 (10-60 x 10<sup>9</sup>), vía subcutánea en la tabla del cuello.

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 reacciones locales. Entre las desventajas, presenta una reacción aglutino génica, una infección patogénica ocasional persistente y requiere para su conservación una cadena de frío rigurosa <sup>41</sup>.

**La vacuna RB-51.-** Es una vacuna viva, atenuada, liofilizada, genéticamente estable. 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.

La RB51 es segura a toda edad, pudiéndose aplicar en terneras desde los cuatro meses. Admite una revacunación en adultos, obteniéndose así una inmunidad más sólida y duradera, a diferencia de la Cepa 19. Al permitir la revacunación, se reduce la posibilidad de tener animales mal inmunizados por fallas en la primera vacunación. La RB51 es similar a la Cepa 19, pero tiene la característica de no dar anticuerpos que interfieren en el diagnóstico de la enfermedad <sup>27</sup>.

### 1.23. Control y Erradicación

El control y la erradicación de la brucelosis requieren el poner en ejecución en forma coordinada por lo menos las siguientes cuatro medidas:

- Vacunación,
- Diagnóstico,
- Eliminación de reactores.
- Vigilancia epidemiológica.

Si una de estas acciones falla o solo se cumple parcialmente, la enfermedad permanece como problemática constante o emergente. Actualmente, se dispone de herramientas que permiten cumplir la primera acción mediante la aplicación reglamentaria de una vacuna, cepa 19 o cepa RB51 <sup>38</sup>.

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Ubicación del lugar de investigación**

##### **2.1.1. Ubicación política y geográfica**

El presente trabajo de investigación se realizó en 15 localidades con gran potencial ganadero del distrito de Pardo Miguel, a ambos márgenes de vía principal.

Departamento	:	San Martín
Provincia	:	Rioja
Distrito	:	Pardo Miguel Naranjos
Altitud	:	975 msnm
Latitud	:	5°44'32"S 77°30'39"O
Clima	:	Cálido tropical

**Fuente:** Senamhi Rioja

#### **2.2. Materiales**

- Kit vacutainer
- Gradilla
- Pipeta automática
- Plumones tinta indeleble
- Mascarrila
- Guantes
- Hojas de registro
- Mondadientes

#### **2.3. Equipos**

- Cooler o hielera
- Centrifuga
- Refrigeradora
- Aglutinoscopio

## 2.4. Reactivo

Antígeno rosa de bengala, suspensión de células de *Brucella abortus* cepa 119, coloreada con el colorante rosa de bengala, inactivada por calor y concentrada por centrifugación, para obtener un paquete celular al 8%, para ser empleada en la prueba diagnóstica mediante la prueba de la placa.

## 2.5. Métodos

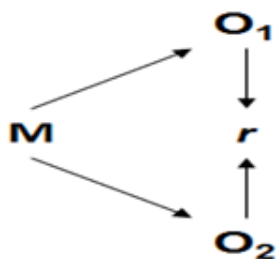
### 2.5.1. Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo de investigación se encaja dentro de una Investigación Aplicada, ya que aplica conocimientos existentes y nivel de investigación es Descriptiva Correlacional, encaminada a la resolución de problemas prácticos, con un margen de generalización limitado. Esto debido a que un proyecto de investigación, es la aplicación de conocimientos y métodos ya probados para la solución de un problema similar a otro que ha sido resuelto con tales métodos <sup>42</sup>.

### 2.5.2. Diseño de investigación

La investigación no experimental es la que se realiza sin manipular deliberadamente las variables independientes; se basa en categorías, conceptos, variables, sucesos, comunidades o contextos que ya ocurrieron o se dieron sin la intervención directa del investigador. Observa variables y relaciones entre estas en su contexto natural.

Una de las técnicas de inferencia de uso más frecuente, para el análisis de datos nominales es la prueba no paramétrica llamada chi-cuadrado. Es adecuada para el análisis de datos consistentes en frecuencias que provienen de una o dos variables. La investigación se esquematiza de la siguiente manera, en base al chi-cuadrado <sup>43</sup>.



**Donde:**

M: Muestra (Números de vacunos del distrito de Pardo Miguel Naranjos)

O1: Observaciones sobre (sexo, razas y etapa productiva)

O2: Evidencia positiva o negativa de la Prueba de *Brucella abortus*.

r: Relación

**2.5.3. Población y muestra****Población**

La población ganadera del Distrito de Pardo Miguel Naranjos según el censo agropecuario 2012 es de 4404 cabezas de ganado vacuno.

**Muestra**

Para el cálculo de la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 pqN}{Ne^2 + Z^2 pq}$$

n: tamaño de muestra

N: 4404 total de la población en estudio

Z: 95% nivel de confianza

p: 10% probabilidad de casos positivos

q: 90% probabilidad de sanos

e: 5% error de estimación

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot 0.1 \cdot 1 - 0.1 \cdot 4404}{4404 \cdot 0.05^2 + 1.96^2 \cdot 0.1 \cdot 1 - 0.1}$$

$$n = \frac{3.8416 \cdot 0.1 \cdot 0.9 \cdot 4404}{4404 \cdot 0.0025 + 3.8416 \cdot 0.1 \cdot 0.9}$$

$$n = \frac{1522.6566}{11.3557}$$

$$n = 134.98 \cong 135$$

Según la fórmula empleada la muestra es de 135 animales; de cada comunidad ganadera se tomó muestras de sangre de 9 animales 8 hembras y 1 macho, debido a que hay 15 comunidades con potencial ganadero de los 3 centros poblados y 39 caseríos, pertenecientes al distrito.



#### **2.5.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **Toma de muestra de la vena coxígea**

Una de las técnicas más comunes y fáciles para tomar muestras de sangre en bovinos es a través de las arterias y venas coccígeas.

- a) Rotular o identificar el tubo
- b) Sujetar la cabeza en un brete o corral con la ayuda de un cabezal o lasos
- c) Lavarse las manos.
- d) Desinfectar el área de punción
- e) Levantar la cola del animal con suavidad hasta casi colocarla en posición vertical, sujetándolo en el tercio medio.
- f) Con la mano libre localizar por palpación la vena en la línea media, justo caudal de la inserción de los pliegues de la piel de la cola a nivel del espacio entre las vértebras coccígeas.
- g) Colocarse los guantes.
- h) Desinfectar el tapón de goma del tubo con alcohol 70%.
- i) Empatar la aguja en la funda o camisa.
- j) Insertar la aguja craneal a la protuberancia ósea del proceso laminar en la línea media a una profundidad de 8- 12 milímetros en ángulo recto, hasta que la sangre empiece a brotar.
- k) Mantener la funda estable, hasta consumir todo el vacío y retirar el tubo.
- l) Invertir varias veces el tubo para que la sangre y el anticoagulante se mezclen.
- m) Desechar los materiales en una zona segura.

##### **Procedimientos para la Prueba “Rosa de Bengala” (RB)**

La muestra de sangre se extrae sin anticoagulantes en tubos vacutainer al vacío por punción venosa coxígea. Inmediatamente después que se obtiene la muestra de sangre se coloca en la gradilla en posición inclinada para obtener el suero sanguíneo, previa identificación y rotulación del tubo para identificar al animal en otro de los casos se puede llevar a laboratorio.

- La muestra se centrifuga para obtener suero
- Los sueros o antígenos (Ag) se los coloco a temperatura ambiente.
- Los sueros se colocan en una placa de vidrio, 30 µl de suero a investigar y el antígeno rosa de bengala en la misma cantidad, entonces se mezclan por unos 4 minutos, para realizar la lectura (observación de la aglutinación).

### **2.5.5. Técnicas de procedimiento y análisis de datos**

Se presentaron los resultados en tablas de frecuencia por bovino versus sexo, raza, etapa productiva, habitad para la presencia de *brucella abortus* con pruebas de Chi – cuadrado para vacunos y sus variables (no paramétrica). Utilizando un programa estadístico SPSS.

Los resultados serán presentados en tablas estadísticas según VANCOUVER.

### **2.5.6. Métodos estadísticos**

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico con una estimación de la prevalencia con un intervalo de confianza al 95% según la fórmula de THRUSFIELD para estimar la prevalencia cuando no se detecta ningún caso positivo.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados

##### 3.1.1. Prevalencia total

**Tabla 2.**

*Diagnóstico de la prevalencia de Brucelosis bovina mediante la prueba serológica Rosa de Bengala en el distrito de Pardo Miguel – Naranjos (Julio – diciembre 2017)*

N° TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVOS		I.C.95%
	N°	%	
135	0	0	0 – 1.08

Fuente: (Elaboración propia).

Utilizando el suero sanguíneo, se analizó mediante la prueba serológica Rosa de Bengala, con 135 ganados bovinos como muestra, con margen de error del 5% y nivel de confianza de 95%, se tiene evidencias estadísticas que no existe prevalencia de la *Brucelosis bovina* y que no está relacionado con la edad, raza, sexo, etapa reproductiva y habitad en el área ganadera del distrito de Pardo Miguel-Naranjos, provincia de Rioja departamento de San Martín, dichas muestras reflejan 0% positivo a *Brucelosis bovina* con un intervalo de confianza de 95% de 0% - 1.08%.

##### 3.1.2. Prevalencia por edad

**Tabla 3.**

*Brucelosis bovina* por edad (Julio – Diciembre 2017)

EDAD	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	N°	%	N°	%	
2 – 3 años	22	16.30	0	0	0 -1.83
4 – 5 años	98	72.59	0	0	0 -1.01
6 – 8 años	15	11.11	0	0	0 – 1.90
TOTAL	135	100.00	0	0	

Fuente: (Elaboración propia)

Se tomaron muestras a 22 animales de 2-3 años, 98 animales de 4 – 5 años, 15 animales de 6 – 8 años, de los cuales resultaron 0% positivo, por este resultado no se puede relacionar la prevalencia de Brucelosis con respecto a la edad del animal.

### 3.1.3. Prevalencia por grupos raciales

**Tabla 4.**

*Brucelosis bovina* por raza (Julio – Diciembre 2017)

RAZAS	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	N°	%	N°	%	
Cruce	77	57.04	0	0	0 – 1.21
Simental	25	18.52	0	0	0 – 1.87
Brown Swiss	17	12.59	0	0	0 – 1.99
Holstein	16	11.85	0	0	0 – 2.12
TOTAL	135	100.00			

Fuente: (Elaboración propia).

Se tomaron muestras de 77 bovinos cruzados, 17 brown swiss, 25 simental, y 16 holstein, de los cuales todos resultaron 0% positivo, por este resultado no se puede relacionar la prevalencia de Brucelosis con respecto a la raza.

### 3.1.4. Prevalencia por sexo

**Tabla 5.**

*Brucelosis bovina* por sexo (Julio – Diciembre 2017)

SEXO	MUESTRA		POSITIVOS		I.C. 95 %
	N°	%	N°	%	
Hembras	120	88.89	0	0	0 – 1.15
Machos	15	11.11	0	0	0 – 2.80
TOTAL	135	100.00			

Fuente: (Elaboración propia).

De los 135 animales muestreados 120 fueron hembras y 15 machos, de los cuales todos resultaron 0% positivo, no pudiendo relacionar las variables.

### 3.1.5. Prevalencia por etapa productiva

**Tabla 6.**

*Brucelosis bovina* por etapa productiva (Julio – Diciembre 2017)

ETAPA PRODUCTIVA	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	N°	%	N°	%	
Vacas en producción de leche	60	44.44	0	0	0 – 1.30
Vacas en secas	60	44.44	0	0	0 – 1.30
Padrillos	15	11.11	0	0	0 – 2.85
<b>TOTAL</b>	<b>135</b>	<b>100.00</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	

Fuente: (Elaboración propia).

De las 120 vacas muestreadas en esta variable 60 vacas en ordeño y 60 vacas en periodo de seca, de las cuales todas resultaron 0% positivo, no se pudo relacionar las variables.

### 3.1.6. Prevalencia por sectores

**Tabla 7.**

*Brucelosis bovina* por habitad (Julio – Diciembre 2017)

SECTORES	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95 %
	N°	%	N°	%	
2 De Mayo	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Aguas Claras	9	6.67	0	0	0 – 2.96
El Diamante	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Los Jardines	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Naranjos	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Santa Cruz	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Sánchez Carrión	9	6.67	0	0	0 – 2.96
San Agustín	9	6.67	0	0	0 – 2.96
San Juan Del Mayo	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Santa Rosa Del Mirador	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Sagrado Corazón De Jesús	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Cesar Vallejo	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Oriente Nuevo	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Yarinal	9	6.67	0	0	0 – 2.96
Villarrica	9	6.67	0	0	0 – 2.96
<b>TOTAL</b>	<b>135</b>	<b>100</b>			

Fuente: (Elaboración propia).

De todas las 15 sectores del distrito de Pardo Miguel, con potencial ganadero se muestrearon 9 animales al azar (8 hembras y 1 macho) en su totalidad 135 animales, de los cuales resultaron 0% positivos, no se pudo relacionar las variables.

### 3.2. Discusión

En el presente trabajo de investigación, se analizó mediante la prueba serológica Rosa de Bengala, con 135 ganados bovinos como muestra, con margen de error del 5% y nivel de confianza de 95%, se tiene evidencias estadísticas que no existe prevalencia de la *Brucelosis bovina* y que no está relacionado con la edad, raza, sexo, etapa reproductiva y habilidad en el área ganadera del distrito de Pardo Miguel-Naranjos, provincia de Rioja departamento de San Martín, dichas muestras reflejan 0% positivo a *Brucelosis bovina* con un intervalo de confianza de 95% de 0% - 1.08%. Comparando este trabajo de investigación con otros trabajos realizados a nivel nacional y en el Dpto. San Martín en los últimos años el porcentaje de positividad es inferior a los trabajos realizados por: SENASA quien creó un plan de control y erradicación de la brucelosis bovina en el año 1999, donde se dio el primer monitoreo para conocer la situación epidemiológica de la brucelosis bovina en las principales cuencas ganaderas del país determinando una prevalencia de 0,07% al evaluar 33046 muestras de suero sanguíneo resultando 22 casos positivos.

El SENASA continuando con su plan de control y erradicación de brucelosis bovina en las diferentes cuencas ganaderas a nivel nacional reportaron en el año 2000 una prevalencia de 0.06%, en el 2001 una prevalencia de 0.01% y por último en el 2002 como muestreo a nivel nacional se obtuvo una prevalencia de 0.026%, demostrando que aun ahí casos positivos a nivel nacional. En el año 2017 de noviembre a diciembre se muestrearon a 154 animales en la región San Martín obteniendo un 0% de prevalencia con respecto a años anteriores, así mismo estos resultados concuerdan con el estudio realizado en el distrito de Pardo Miguel.

Por otra parte los resultados obtenidos en el proyecto de investigación concuerdan con el estudio realizado por Valdivia .P; Rivera G. (2003), trabajo realizado en la provincia de Parinacochas, Ayacucho, Perú. En ganado criollo de cuatro distritos (Chumpi, Coracora, Puyusca y pullo), con 385 muestras, para detectar anticuerpos contra *brucella* spp. Prueba

de aglutinación rosa de bengala. No se encontraron animales seroreactores lo que indica que el área es libre de *brucella* spp.

Además cabe mencionar que otros trabajos realizados a nivel nacional demuestran una prevalencia de 0%. Espinoza L. Paulo 2018 en el distrito de Moche, provincia de Trujillo, departamento de la Libertad. Se analizaron 114 muestras pertenecientes a 12 establos que no han pasado por el plan de control y erradicación de brucelosis bovina impuesta por el SENASA, el estudio tuvo una prevalencia de 0%.

Estos resultados difieren de los reportados por Fernandez M. Arturo (2002). Quien realizó un estudio de prevalencia de brucelosis bovina en la provincia de Leoncio Prado, donde realizó una muestra de 275 animales de una población de 1364 vacas. El resultado obtenido mediante la prueba rosa de bengala dio como prevalencia un 1%, por lo tanto se debe realizar una vigilancia epidemiológica. Por su parte Zavala D. Imelda en el (2011), en el Codo de Pozuzo, Huánuco, llevó a cabo un estudio de prevalencia de brucelosis bovina en 5439 bovinos entre abril a junio del (2007). Dos bovinos resultaron positivo a la prueba rosa de bengala, por lo tanto ahí una prevalencia de 0.02%.

Esta investigación da un gran aporte de datos importantes que permitirá contribuir a futuras investigaciones y dar a conocer el estado actual de la *brucelosis bovina* en los hatos ganadero del distrito de Pardo Miguel, sabiendo que el año 2012 el ministerio de salud reportó un caso de brucelosis bovina en humanos.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planeados y de los resultados obtenidos se llega a las siguientes conclusiones:

- La prevalencia de la brucelosis bovina según las variables sexo, raza, etapa productiva y hazienda en el distrito de Pardo Miguel es de 0% con un intervalo de confianza de 95% de confiabilidad 0% - 1.08%. utilizando la prueba diagnóstica de campo con el antígeno de *brucella abortus* (Rosa de Bengala cepa 119).
- El porcentaje de los hatos ganaderos expuestos a brucelosis bovina es de 0% ya que no se encontró ninguna muestra positiva a la prueba serológica rosa de bengala, demostrando que los hatos ganaderos del distrito de Pardo Miguel se encuentra libre de la infección bacteriana.
- La zonificación epidemiológica no se puede realizar porque no hubo ningún caso positivo a la prueba serología rosa de bengala.
- Al ser la brucelosis una enfermedad zoonótica, en el distrito de Pardo Miguel se consume la leche cruda o no pasteurizada, siendo uno de los factores principales a considerar como el contagio de la enfermedad en el humano.



## RECOMENDACIONES

- Instaurar el programa de control y erradicación, buscando la condición de hatos libres de la enfermedad, luego de las evaluaciones que norman en la ley correspondiente.
- Controlar el tránsito de animales (reproductores), con las medidas de control efectivas como: cuarentena, vigilancia epidemiológica, métodos de diagnóstico específico.
- Brindar la adecuada educación sanitaria a los ganaderos por parte del organismo oficial de sanidad (SENASA), por su importancia económica, sanitaria y epidemiológica del Perú.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OIE. Chapter 2.3.1. Bovine Brucellosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial. Washington D.C. 2004. pp 1-831.
2. Memish, Z. A. & Balkhy, H. H. Brucellosis and International Travel. Journal of Travel Medicine. Washington D.C. 2004. Pp 11: 49-55.
3. Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L. & Tsianos, E. V. The new global map of human brucellosis. Lancet Infectious Diseases. Loanina. Grecia. 2006. 6: 91-99.
4. Lucero, N. E., Ayala, S. M., Escobar, G. I. & Jacob, N. R. Brucella isolated in humans and animals in Latin America. Epidemiological Infection. Buenos Aires. Argentina. 2008. Pp. 136: 496-503.
5. Rivers, R., Andrews, E., Gonzalez Smith, A., Donoso, G., & Oñate, A. Brucella abortus, inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. Concepción. Chile. 2006. pp. 7-18. Disponible en: [http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0301-732x2006000100002](http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0301-732x2006000100002)
6. Burrows, W.; Tratado de Microbiología. 10 ed. Interamericana. México D.F. 1974. pp. 472 – 480.
7. Acha, N.; Szyfrs, Zoonosis y enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2. ed. Washington D.C., EUA. Organización Panamericana de la Salud. 1988. pp. 14 - 35.
8. OIE. Brucelosis bovina. Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas. (sitio en internet). Paris. Francia. 2002. Disponible en: [http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/E\\_00021.htm1-7.OIE](http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/E_00021.htm1-7.OIE).

9. Álvarez, E. Situación de la Brucelosis en América: panorama general. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México. 2001. pp. 9-15.
10. Mendes, A., Bernardino, E., Bergamo, M., Sitta, R., & Zappa, V. (Julio de 2008). A importância da brucelose bovina saúde pública. Brasil. 2008. Pp 15-22.
11. Meza C. Alan; Morales C. Siever; Ara G. Miguel; Calle E. Sonia Seroprevalencia de brucelosis bovina en el Distrito de Puerto Inca, Huánuco. Rev. Lima Perú. 2010. pp 1-56.
12. Valdivia P. Lesmes; Rivera G. Hermelinda. Seroprevalencia de brucella sp. en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de parinacochas, Ayacucho. 2003. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v14n2/a13v14n2.pdf>.
13. Huguete T. Carmen; Delgado C. Alfredo; Calle E. Sonia; Gonzales Z. Armando. Cuantificación de brucella sp. En bovinos de la Provincia de Canta, Lima. 2005. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172005000200008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172005000200008).
14. Fernandez M. Arturo. “seroprevalencia de brucella abortus en el ganado bovino lechero en la Provincia de Leoncio Prado, Tingo María – Perú. 2002. pp 1-78. Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/742/T.ZT-315.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
15. Espinoza L. Paulo. 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”. 2018. Pp.1-65. Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/4116/1/PAULO.ESPINOZA\\_CUANTIFICACION.BRUCELOSIS.BOVINA.ESTABLOS\\_DATOS.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/4116/1/PAULO.ESPINOZA_CUANTIFICACION.BRUCELOSIS.BOVINA.ESTABLOS_DATOS.pdf).

16. Zavala D. Imelda; Morales C. Siever; Huaman U. Hector; Angulo J. Carlos. Presencia de brucelosis bovina en el distrito de Codo del Pozuzo, Huánuco. 2011. Pp. 1-4. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172011000100013](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000100013).
17. Merck; Manual Merck de Veterinaria. Un manual de Diagnóstico. Tratamiento. Profilaxis y control de las enfermedades para el Veterinario. 5 ed. Barcelona España. 2000. pp. 1119- 1122.
18. FAO/OMS. Comité mixto de expertos en Brucelosis, Quinto informe, Organizaciones de las Naciones Unidas de la Agricultura y la Alimentación, Roma, p. 2. 1972.
19. Bustamante Urrutia, G. A., & Cedeño Mendoza, P. Incidencia de Brucelosis Bovina en el Canton Santa Ana de la Provincia de Manabi. Ecuador. 2009. Pp 155-157.
20. Meza C, A., Morales C, S., ARA G, M., Manchego S, A., Calle E, S., & Angulo J, A. Seroprevalencia de Brucelosis Bovina en el distrito de Puerto Inca, Huánuco. 2010. Pág. 35.
21. Brunner D. W; Gillespie, Enfermedades infecciosas de los Animales domésticos. Fomnien. México D.F. México 1970. pp. 259- 278.
22. Mosquera, O., Freitez, R., & Rumbos, A.T. Vigilancia Epidemiologica de la Brucelosis Bovina en la Parroquia Buria, Municipio Simon Planas. (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela). 2009.
23. Castro, L, Prevalencia de la Brucelosis bovina en la provincia Ichilo del departamento de Santa cruz. Tesis de Grado. Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia. 1995. pp. 49.

24. Romero, R. Microbiología y Parasitología humana, 3<sup>a</sup> ed. México. 2013. pp.1725: 1509 – 1511.
25. Miño B. & Pico V. Estudio de la Presencia de Brucelosis Bovina, en explotaciones ganaderas del Cantón Mejía, Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador, 2003. pp. 63-66; 88-96.
26. Mederos Dora; Rodríguez J; María Elena Rivero, et al. Brucelosis. En: Patología Especial de los Animales Domésticos. Editorial Pueblo y Educación. Primera reimpresión. La Habana. Cuba. 1981. pp 206-231.
27. Duran F. Información Zoosanitaria. Brucelosis bovina. Ambato. Ecuador.2012. Pág. 67-68. Disponible en: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/diseasedistributionmap](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/diseasedistributionmap).
28. Ávila J. Enfermedades abortivas. Clínica de los bovinos. Ambato. Ecuador 2013. Pág. 120-123. Disponible en: [http://fmvzenlinea.fmvz.unam.mx/file.php/67/unidad\\_5/Enfermedades\\_Abortivas.pdf](http://fmvzenlinea.fmvz.unam.mx/file.php/67/unidad_5/Enfermedades_Abortivas.pdf).
29. Cano C. Brucelosis Bovina. Ambato. Ecuador. 2012. Pág. 76 -77. Consultado el 5 de Abril del 2015. Disponible en: <http://fmvz.freeiz.com/fmvz/deparatamentos/rumiantes/archivos/Brucelosis%20Bovina.doc>.
30. Manrique S. Estudio epizootiológico de brucelosis bovina. Ambato. Ecuador.2011. Pag.90. Disponible en: <http://tesis/JUAN%20JOSE%20MANRRIQUE%20S-20101105-161902.pdf>.
31. Torres H. Dirección de Sanidad Animal Programas Específicos. Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina. Quito. Ecuador. 2014. Pag 68-69.

32. López Merino A, Asselineau J, Serre A, Roux J, Basocul S, Lacave C. Immunization by an insoluble fraction extracted from *Brucella melitensis*: immunological and chemical characterization of the active substances. *Infection and Immunology*. Estados Unidos. Washington D.C.1976. pp 13: 311-21.
33. Casas R. *Revistasmvu*. Sociedad de Medicina Veterinaria. Ambato. Ecuador. 2011. Pag.56-59. Disponible en: <http://www.revistasmvu.com.uy/revistas/numero170.pdf>.
34. Piñate P. las vacunas contra la brucelosis bovina. Ambato. Ecuador 2013. Pag. 23-25. Disponible en: <http://agronotas.wordpress.com/2008/09/30/brucelosis-bovina.pdf>.
35. Ramacciotti F., *Brucelosis, Etiología / Epidemiología / Bosquejo Clínico / Diagnóstico / Terapéutica*, 3ª edición, ediciones Olocco - Córdoba Argentina. 1976 pp. 7.
36. Suárez F. Introducción. En: *Diagnóstico de Brucelosis animal*. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México. 2001. pp. 1-7.
37. Mancera A. Prueba de Antígeno Brucelar Amortiguado o de Tarjeta. En: *Diagnóstico de Brucelosis animal*. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México. 2001. pp. 80-81.
38. [SENASA] Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Programa de control y erradicación de tuberculosis y brucelosis bovina. Lima. Perú. 2006. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe>.
39. Merchant I. y Packer R. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3.<sup>a</sup> ed. España 1980.
40. Bauza E. Tratamiento antimicrobiano de la brucelosis. Información terapéutica de la Seguridad Social. Guayaquil - Ecuador. 1999. pp 155-160.

- 41.** Sánchez A. Epidemiología para Brucella Abortus. Ambato. Ecuador. 2014. Pág. 120 121. Disponible en: [http://www.sag.cl/sites/default/files/TRÍPTICO\\_CUARENTENA\\_PREDIAL\\_BB.pdf](http://www.sag.cl/sites/default/files/TRÍPTICO_CUARENTENA_PREDIAL_BB.pdf).
- 42.** Carrillo, Francisco ""Cómo hacer la tesis" 1ª Ed. Horizonte. Lima. Peru.1995. pp. 19-25.
- 43.** Hernandez, Roberto "Metodología de la investigación". 3º Edición. McGraw Hill. México. 2010. Pp 1-56.

## ANEXOS

### ANEXO A

#### FICHAS DE MUESTREO POR LOCALIDAD

#### FICHA DE MUESTREO

**PROPIEDAD:** Santa Anita

**PROPIETARIO:** Renán Rodas

**LUGAR:** Naranjos

**FECHA:** 10-09-2017

**NÚMERO TOTAL DE ANIMALES:** 20

**NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS:** 9

Identificación	Edad	Raza	Sexo	Categoría	Obs.
Damiana	6 Años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Coneja	6 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Florinda	4 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Cachona	5 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Negra muca	6 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Seca
Barrosa	4 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Seca
Fleiver	4 años		Hembra	Vaca	Seca
Orejona	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Candamo	2 años	Simmental	Macho	Padril	_____



**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: Unir Venceremos****PROPIETARIO: Ramón Maslucan****Rojas****LUGAR: Yarinal****FECHA: 10-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 25****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Dominga	8 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Lola	5 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Chela	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Seca
Lucero	4 años	simmental	Hembra	Vaca	Seca
Mogma	5 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Juanita	5 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Negra	7 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Seca
Loba	6 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Cantinflas	3 años	Simmental	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD : S/N****PROPIETARIO: Avelino****Agurto Huamán****LUGAR: Santa Cruz****FECHA: 20-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 18****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Barrosa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Colorada santa	7 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Viejita	8 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Candela	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Mulato	2 años	Simmental	Macho	Padril	_____
Cacho grueso	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Cesec	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Luna	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pera	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: Los Olivos****PROPIETARIO: Ernestina Juape****Constantino****LUGAR: Oriente Nuevo****FECHA: 22-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 25****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Fleiver	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Seniza	6 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Mariposa	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Juanita	6 años	Simmental	Hembra	Vaca	Seca
Muca	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Bron	6 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Seca
Golondrina	6 años	Holstein	Hembra	Vaca	Seca
Gorda	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pancho	2 años	Simmental	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: El Vivero****PROPIETARIO: Margarita****Terán Alarcón****LUGAR: Villarica****FECHA: 28-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 20****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Chabuca	3 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Chacha	4 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Negra	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pinta	5 años	Holstein	Hembra	Vaca	Seca
Lucera	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Rosada	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Frente Blanca	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Flor	4.5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Niño	4 años	Simmental	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: El Vertiente****PROPIETARIO: Onorato****Florencio Becerra Tarrillo****LUGAR: 2 de Mayo****FECHA: 28-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 28****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Zamba	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Julia	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Cachona	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Juana	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Thalia	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Franchesca	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Princesa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Dominga	4 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Seca
Malaco	4 años	simmental	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: Manantial****PROPIETARIO: Senobio****Guevara Tarrillo****LUGAR: Sanchez Carrion****FECHA: 29-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 25****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Colorado	3 años	Simmental	Macho	Padril	_____
Colorada	3 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Roja	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Negra jols	5 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Gateada	7 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Maruja	6 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Vanessa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Grifina	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Lucera	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: La Lima****PROPIETARIO: Elmer Irigoín Cieza****LUGAR: Los Jardines****FECHA: 29-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 17****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Golondrina	3 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Canela	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Negra	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Baya III	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Baya II	5 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Baya	5 años	Brown swiss	Hembra	Vaca	Leche
Gateada	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Clávela	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pinto	4 años	Holstein	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: El Guayaquil****PROPIETARIO: Victoriano Paz Vega****LUGAR: Aguas Claras****FECHA: 30-09-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 22****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Muca	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
China maria	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Frente blanca	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pasha	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Martina	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Colorada	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Canela	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Blanca	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Negro	4 años	Cruce	Macho	Padril	_____



**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: Huayaquil****PROPIETARIO: Policarpio****Delgado Altamirano****LUGAR: Cesar Vallejo****FECHA: 03-10-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 19****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Zorra	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Loba	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Ceniza	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Gacha	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Pinta	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Lucera	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Mecha	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Barrosa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Lucero	4 años	simmental	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: El manantial****PROPIETARIO: Joel Llamo Bravo****LUGAR: Diamante****FECHA: 05-10-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 24****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Gringa	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Pepa	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Seca
Naranjita	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Colorada	4 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Pinthusca	5 años	simmental	Hembra	Vaca	Seca
Luna	5 años	Simmental	Hembra	Vaca	Leche
Mulato	3 años	Cruce	Macho	Padril	_____
Negrita	3 años	Simmental	Hembra	Vaca	Seca
Limoná	4 años	simmental	Hembra	Vaca	Seca

## FICHA DE MUESTREO

**PROPIEDAD:** Las Pomarrosas

**PROPIETARIO:** Leoncio Alarcón

**Días**

**LUGAR:** Sagrado Corazón de Jesús

**FECHA:** 05-10-2017

**NÚMERO TOTAL DE ANIMALES:** 20

**NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS:** 9

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Guayana	4 años	holstein	Hembra	Vaca	Leche
Hermana	4 años	holstein	Hembra	Vaca	Seca
Muca	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Seca
Baguina	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Seca
Naranja	4 años	holstein	Hembra	Vaca	Leche
Mandarina	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Seca
Pintada	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Lucera	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Caimán	3 años	Holstein	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: Flor de Retama****PROPIETARIO: Ángel Pérez****Espinoza****LUGAR: San Agustín****FECHA: 12-10-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 30****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Melliza	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Sulema	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Shinga	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Loba	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Mandarina	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Gringa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Devora	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Camila	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Cirilo	4 años	Brown swiss	Macho	Padril	_____

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: La Rivereña****PROPIETARIO: Alejandro****Ordoñez Mundaca****LUGAR: San Juan del Mayo****FECHA: 15-10-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 24****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Pinta	6 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Naranja	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Estrella	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Muco	3 años	Cruce	Macho	Padril	_____
Sarca	3 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Barrosa	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Muca	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Colorada	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Cebucha	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca

**FICHA DE MUESTREO****PROPIEDAD: El Mirador****PROPIETARIO: Peregrino****Correa Tineo****LUGAR: Santa Rosa Del Mirador****FECHA: 16-10-2017****NÚMERO TOTAL DE ANIMALES: 18****NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 9**

<b>Identificación</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Obs.</b>
Pepa	4 años	Simmental	Macho	Padril	_____
Mulata	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Frontina	4 años	Holstein	Hembra	Vaca	Leche
Barrosa	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Muca	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Leche
Amarrilla	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Pinta	4 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Muca colorada	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca
Loba	5 años	Cruce	Hembra	Vaca	Seca

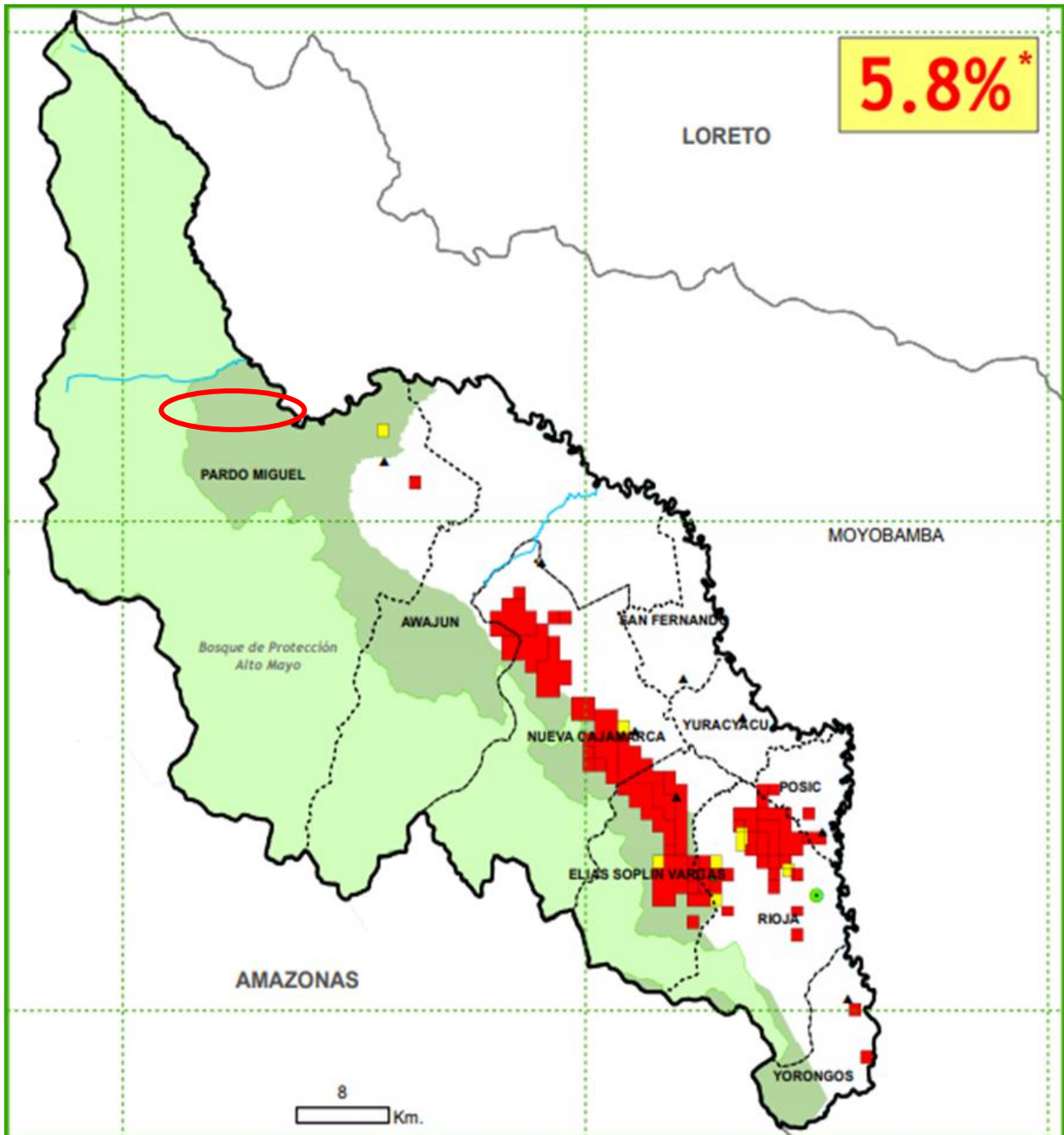
## ANEXO B

## Mapa de la región San Martín



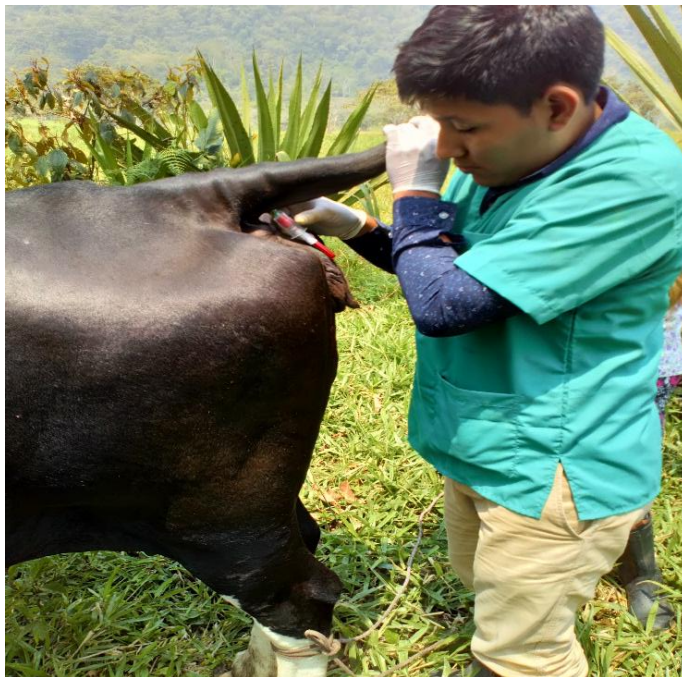
### ANEXO C

Mapa de la provincia de Rioja y sus distritos





## ANEXO D



**Imagen 1:** Colecta de la muestra sanguínea del ganado vacuno



**Imagen 2:** Conservación de las muestras para su traslado a laboratorio



**Imagen 3-4:** Muestras colectadas y centrifugado



**Imagen 5-6:** Lectura de la prueba rosa de bengala en el aglutinoscopio