

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
DE LA SELVA**

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA ANIMAL



**“SEROPREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN GANADO
BOVINO LECHERO EN LA PROVINCIA DE LEONCIO PRADO”**

Tesis

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO ZOOTECNISTA

ARTURO, FERNANDEZ MAMANI

PROMOCIÓN 99 – I

**“UNASINOS COMPETITIVOS PARA LIDERAR EN EL NUEVO
MILENIO”**

Tingo María - Perú

2002



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María - Perú

FACULTAD DE ZOOTECNIA

Av. Universitaria Km. 2 Telf. (064) 561280 Fax: (064) 561156 E-Mail: faczoot@unas.edu.com.pe

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 29 de diciembre del 2001, a horas 09:0 a.m. en la Sala de Grados y Títulos, para calificar la tesis titulada:

"**SEROPREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN GANADO BOVINO LECHERO EN LA PROVINCIA DE LEONCIO PRADO**"

Presentado por el Bachiller: **ARTURO FERNANDEZ MAMANI**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de "BUENO".

En consecuencia el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título de conformidad con lo establecido en el Art. 81 inc. m) del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 02 de Enero del 2002

M.V. TEODOLFO VALENCIA CHAMBA
Presidente

Ing. MIGUEL PEREZ OLANO
Vocal



M.V. LISANDRO TAFUR ZEVALLOS
Vocal

M.V. JORGE TURPO CALCINA
Asesor

DEDICATORIA

A mis queridos padres:

Hipólito Fernández Malpartida,

Francisca Mamani de Fernández;

autores de mis días y formación, *

con respeto, amor y gratitud, por la

confianza y sacrificio desplegado y

así ver plasmado en mi todos sus

anhelos.

A mis queridos hermanos:

Carlos, Luzmila y Godofredo

por su apoyo y comprensión,

mi más sincero agradecimiento

A mis hijos Jesús Ángel y

Fátima Nohely por ser lo más

indispensable en mi vida

MI AGRADECIMIENTO

- Al M.V. ; Jorge Turpo Calcina y M.V. ; Alfredo Benito Zúñiga, amigos, guías y asesores del presente trabajo.
- A los profesores de la Facultad de Zootecnia, por sus conocimientos impartidos.
- Al Ing. Juan Lao Gonzáles por el apoyo incondicional a la realización del presente trabajo.
- Al Ing. Vanessa García Masías por su valioso y desinteresado apoyo.
- A los señores ganaderos de todos los distritos de la provincia de Leoncio Prado y en especial a la comunidad de Montevideo, por su desinteresada colaboración, lo cual hizo posible la realización del presente trabajo.

INDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. La brucelosis bovina.....	3
2.1.1. Agente causal.....	3
2.1.2. Epidemiología.....	5
2.1.3. Patogénesis.....	7
2.1.4. Signos clínicos.....	12
2.1.5. Diagnóstico.....	14
2.1.6. Prevención y control.....	20
2.2. Importancia económica.....	22
2.3. Prevalencia de brucelosis bovina en Latinoamérica.....	23
2.4. Prevalencia de brucelosis bovina en el Perú.....	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1. Localización y duración del trabajo experimental.....	30
3.2. Animales.....	30
3.3. Alimentación.....	31
3.4. Materiales.....	31
3.4.1. Materiales de campo.....	31
3.4.2. Materiales, equipos y reactivos de laboratorio.....	31
3.5. Variables :.....	32
3.5.1. Variables independientes.....	32

3.5.2. Variables dependientes.....	32
3.6. Metodología.....	32
3.6.1. Tipo de estudio.....	32
3.6.2. Tamaño muestral.....	32
3.6.3. Toma de muestras.....	34
3.6.4. Análisis de muestras.....	35
3.6.5. Análisis estadístico.....	36
3.7. Prevalencia.....	37
IV. RESULTADOS.....	38
V. DISCUSION.....	47
VI. CONCLUSIONES.....	51
VII. RECOMENDACIONES.....	52
VIII. ABSTRACT.....	53
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	54
X. ANEXO.....	60

INDICE DE CUADROS

Cuadro:	Página
1. Bovinos no vacunados o vacunados a una edad mayor de 8 meses.....	17
2. Bovinos de 30 meses a mas vacunados a la edad de 4-8 meses.....	18
3. Prevalencia de <i>Brucella abortus</i> en el Perú.....	29
4. Distribución de vacas según distritos y muestreos en la provincia de Leoncio Prado.....	34
5. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> en la provincia de Leoncio Prado.....	38
6. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por distritos en la provincia de Leoncio Prado.....	39
7. Análisis serológico de <i>Brucella abortus</i> mediante la prueba de aglutinación en placa en la provincia de Leoncio Prado.....	41
8. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.....	43
9. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por razas en la provincia de Leoncio Prado.....	45

En el anexo

10. Total de animales y número de muestras por razas en la provincia de Leoncio Prado.....	61
11. Total de animales y número de muestras por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.....	62
12. Porcentaje de animales reaccionantes a la prueba de aglutinación en placa por razas en la provincia de Leoncio Prado.....	63
13. Porcentaje de animales reaccionantes a la prueba de aglutinación en placa por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.....	64
14. ANVA distritos.....	65
15. ANVA número de partos.....	65
16. ANVA razas.....	65

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> en la provincia de Leoncio Prado.....	38
2. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por distritos en la provincia de Leoncio Prado.....	42
3. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.....	44
4. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> por razas en la provincia de Leoncio Prado.....	46

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la provincia de Leoncio Prado en los distritos de: José Crespo Castillo, Rupa Rupa, Padre Felipe Luyando, Mariano Dámaso 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 1º al 8º 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.

I. INTRODUCCIÓN

La amazonía peruana posee las condiciones ecológicas favorables para la crianza extensiva de ganado vacuno, en mayor y menor escala, sin afectar el ecosistema. Sin embargo cabe señalar que en el aspecto sanitario las enfermedades infecciosas y parasitarias limitan la producción y reproducción de los animales.

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de distribución mundial, es causada por una bacteria Gram negativo, estrictamente anaeróbica y patógena, factor importante para su supervivencia en los hospederos domésticos, silvestres y el hombre (BLOOD *et al.*, 1992). Esta enfermedad se caracteriza por provocar cuantiosas pérdidas productivas y reproductivas; traduciéndose en un gran problema económico, además de ser un problema de salud pública.

En el país existe gran variabilidad en la presentación de la enfermedad, dependiendo del área geográfica y tipo de explotación; las razones para su presencia es la escasa disponibilidad de laboratorios públicos y privados capaces de realizar pruebas diagnósticas rápidas y sensibles, inadecuada vigilancia epidemiológica, falta de interés del ganadero, y sobre

todo carencia de una decisión política en la ejecución del programa de control y erradicación de esta enfermedad en el país.

La provincia de Leoncio Prado cuenta con 1,364 vacas (MINAG, 1989) de doble propósito, esto justifica un desarrollo ganadero sostenido, pero existen limitaciones en el aspecto sanitario como: abortos, nacimientos de crías débiles, esterilidad temporal de vacas y vaquillonas, que hace sospechar la presencia de *Brucella abortus* como causa de la merma en el potencial reproductivo ganadero de la zona. En razón de que en el Perú esta enfermedad es de tipo enzoótico se hace necesario realizar métodos de diagnóstico más rápidos y sensibles, esto es perfectamente posible ya que la mayor parte de los agentes patógenos tienen determinantes antigénicos que pueden ser diferenciados de otros presentes en los microorganismos, mediante las pruebas serológicas como : las pruebas de aglutinación en placa, prueba de aglutinación en tubo, prueba de ELISA, etc. La prueba de aglutinación en placa detecta las inmunoglobulinas M, G₁ y G₂ (TIZARD, 1989 y CORBEL, 1991).

Por tal motivo en el presente estudio planteamos la siguiente hipótesis : en la provincia de Leoncio Prado la prevalencia de *Brucella abortus* es menor al 1% y permite plantear el siguiente objetivo.

- Determinar la seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos lecheros en etapa de lactación en la provincia de Leoncio Prado, mediante la prueba de aglutinación en placa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. La brucelosis bovina

MERCK (1993) Reportó que la brucelosis bovina es una enfermedad contagiosa que afecta al ganado bovino, porcino, ovino, caprino, canino y al ser humano; es causado por la bacteria del género *Brucella* y la enfermedad es caracterizado, en la hembra por aborto y retención de placenta y en el macho ocasiona orquitis, epididimitis e infección de las glándulas sexuales accesorias. La enfermedad es de distribución mundial y es zoonótica; en el ser humano la enfermedad se conoce como fiebre ondulante o fiebre malta.

2.1.1. Agente causal

CORBEL (1991) y JACQUES (1986) Refirieron que las *Brucellas* son bacilos cocoides de 0.6 – 1.5 micras de longitud y 0.5 – 0.7 micras de diámetro, son Gram negativos, anaerobios, sin cápsulas e inmóviles; aparecen aislados en parejas o en cadenas cortas. *Brucella abortus* es catalasa y oxidasa positiva, utilizan la glucosa pero preferentemente oxidan el eritritol como fuente de energía y ésta sustancia es responsable de la localización, crecimiento y multiplicación de la bacteria.

ZARCO (1988), BLOOD *et al.* (1992) y JUBB *et al.* (1993) Atribuyen que la predilección de la *Brucella abortus* por el útero grávido y la placenta se debe al eritritol (derivado de los hidratos de carbono), que existe en forma natural y en altas concentraciones en los cotiledones, líquidos fetales y mucosa de los genitales; en estos tejidos se localiza el agente infeccioso y luego constituye como fuente de infección potencial para otros hospederos susceptibles. Además este substrato se encuentra también en las vesículas seminales y testículo del toro, lo que explicaría igualmente la sensibilidad de estos órganos para la localización de *Brucella abortus*.

JACQUES (1986) y CORBEL (1991) Mencionaron que la *Brucella abortus* crece en medios que contienen aminoácidos como tiamina, nicotinamida, biotina, trazas de magnesio, hierro, manganeso y ácido pantoténico. El crecimiento de muchas cepas es mejor si se adiciona sangre o suero al medio de cultivo y la *Brucella* resiste la decoloración por ácidos débiles o soluciones alcalinas. La mayoría de las cepas reducen los nitratos a nitritos, el crecimiento óptimo tiene lugar a 37 °C de temperatura, el pH de 6.6 a 7.4. *Brucella abortus* y *Brucella ovis* requieren de CO₂ (5 a 10%) para su crecimiento en el laboratorio.

MONTES *et al.* (2000) Publicaron que en el mundo se reporta la *Brucella melitensis* como el agente etiológico más frecuente causante de la enfermedad a pesar de variaciones dependiendo de las zonas geográficas.

MEDWAY (1990) y MERCK (1993) Afirmaron que el género *Brucella* presenta tres especies importantes como son : *Brucella abortus*, *Brucella melitencis* y *Brucella suis*; siendo la *Brucella abortus* el microorganismo causante de la brucelosis o aborto contagioso de las vacas. (JAWETZ *et al.*, 1983) Manifestaron que las brucellas son microorganismos no esporulados y con relativa inactividad metabólica, lo cual los convierte en parásitos obligados de los animales y del hombre, siendo característica su localización intracelular.

2.1.2. Epidemiología

MERCK (1993) Señaló que en un hato no vacunado, cuando la *Brucella abortus* ingresa, la enfermedad se difunde rápidamente y causa abortos, por lo tanto la enfermedad se vuelve endémica. El animal infectado típicamente aborta en el segundo tercio de gestación y en la etapa de lactancia subsiguientes es asintomático. El microorganismo es excretado en la leche y por secreciones uterinas, pudiendo las vacas presentar esterilidad temporal.

BLOOD *et al.* (1992) Investigaron que el tipo de crianza y las condiciones ambientales influyen mucho en la propagación de la enfermedad. Los partos en recintos oscuros, húmedos y con una alta densidad de animales, favorecen la propagación de la enfermedad, mientras que la infección tiende a disminuir en los partos que ocurren al aire libre y en medio ambiente seco.

CORBEL (1991) Evaluó que la enfermedad puede seguir un curso agudo en un hato y pueden abortar el 50% de los animales afectados. La transmisión de la enfermedad puede ser de tipo horizontal y vertical este último puede ser a través de la infección intrauterina, calostro y leche de vacas portadoras, en estos animales las brucellas pueden permanecer en los tejidos corporales lo cual constituye un portador sano.

MONTES *et al.* (2000) Mencionaron que la contaminación de animal enfermo a un animal susceptible es por vía sexual o por ingestión de productos contaminados. El ser humano es un huésped accidental, adquiere la infección por varios mecanismos, siendo el más importante la ingestión de alimentos contaminados de origen animal como es la leche o sus derivados no pasteurizados. Otras formas de contaminación lo constituyen el contacto directo con órganos reproductivos infectados con Brucilla, ó con secreciones que puedan contaminar heridas, conjuntiva y por inhalación, siendo muy poco probable el contagio persona a persona.

ACHA y SZYFRES (1989) y MERCK (1993) Afirieron que las vías de infección más frecuentes son : el tracto gastrointestinal esto a través de ingestión de alimentos, agua de bebida, leche contaminada, también mediante fetos abortados, secreciones puerperales de abortos y semen infectado; también puede ser a través de heridas de la piel, ubre infectada, conjuntivas y mucosa vaginal.

BLOOD *et al.* (1992) En la vaca adulta no preñada manifestaron que la *Brucella abortus* se localiza en la glándula mamaria y el útero. En la glándula mamaria no se observa alteración patológica pero constituye la fuente de infección para los becerros y el hombre a través de la ingestión de la leche. En los machos la *Brucella abortus* se localiza en los testículos, epidídimo, y en glándulas anexas al aparato reproductor, pudiendo excretar microorganismos en el semen y provocar aborto y esterilidad en vacas; sin embargo en el hato donde se utiliza inseminación artificial el rol del macho en la transmisión de la enfermedad no es importante, a menos que se utilice el semen de un toro infectado.

CORBEL (1991) Publicó que los toros raramente transmiten la enfermedad en las vacas mediante monta natural, y en muchos casos el número de microorganismo presentes pueden no ser suficiente para producir la infección.

2.1.3. Patogénesis

ACHA y SZYFRES (1989) En un estudio refirieron que la *Brucella abortus* ingresa principalmente por vía oral a través de alimentos, agua, leche contaminada, fetos abortados, secreciones puerperales de abortos, semen infectado. También puede ser a través de la piel, mucosa vaginal y conjuntival.

ALTON (1981) y BLOOD *et al.* (1992) En trabajos realizados indicaron que después de la invasión inicial, la bacteria se localiza en los

gánglios linfáticos locales que drenan la zona y que en la fase crónica tardan algunas semanas en desarrollarse completamente luego de las diseminaciones vía hematógenos (pudiendo la bacteria persistir durante varios meses); luego ocurre propagación a otros tejidos linfoides incluyendo al bazo y ganglios linfáticos mamarios e iliacos. En la vaca gestante, los órganos que inicialmente son localizados por *Brucella abortus* son los ganglios linfáticos regionales, provocando una linfadenitis hiperplásica aguda y con infiltraciones de neutrófilos y eosinófilos, provocando agotamiento de la inmunidad.

JUBB *et al.* (1993) Encontraron que la bacteriemia es intermitente y cesa en algunos animales; cabría esperar que la bacteriemia posibilitaría la localización en diversos tejidos pero, curiosamente, esta localización se restringe principalmente al bazo, glándulas mamarias, útero gestante, tejidos linfoides, testículos y glándulas accesorias de los machos en la fase de bacteriemia precoz.

TIZARD (1989) Estudió que finalmente la *Brucella abortus* llega al útero vía hematógena, antes que se produzca la invasión del útero, aparecen repetidas fases de bacteriemia por la producción de endotoxinas estimulando la producción de interleucina 1, como consecuencia inducen los efectos clínicos (malestar, general, letargia y cambios de temperatura). Los daños en el útero producen placentitis necrosante y endometritis ulcerativa grave caracterizada por una infiltración leucocitaria marcada con linfocitos y células plasmáticas, congestión y proliferación celular que conduce a una necrosis, sumados a la

endotoxemia que causa coagulación intravascular a ese nivel, interfiriéndose así el balance de nutrientes de la madre al feto.

TIZARD (1995) Reafirmó que la *Brucella abortus* llega a la placenta se encuentra con una serie de condiciones favorables, la tensión de oxígeno en la placenta es baja, favoreciendo su desarrollo microaerófilo; dependiendo de la virulencia del microorganismo, si es de baja virulencia, solo causará una ligera inflamación de la placenta, es posible que el aborto no se produzca y se lleve a un parto a término, aunque seguido de retención de placenta; si la bacteria tiene una virulencia intermedia, la inflamación de la placenta puede ser moderada, con focos de placentitis severa que irán extendiéndose lentamente; este avance progresivo interfiere con el funcionamiento normal de la placenta, causando estrés en el feto sin llegar a matarlo.

ZARCO (1988) y JUBB *et al.* (1993) En un trabajo estudiaron que como resultado del estrés la hipófisis fetal libera ACTH (Hormona adrenocorticotrópica), la cual inicia la cascada de eventos que conducen al parto, como consecuencia se produce el aborto de un feto recién muerto. Si la *Brucella* es de virulencia alta puede matar al feto muy rápidamente debido a la endotoxemia que induce la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (prostaglandina), causando coagulación intravascular e interfiriendo la circulación sanguínea a nivel de la placenta, ya sea por los daños causados a la placenta o al feto mismo (hipoxia y acidosis en el feto, que estimula la respiración del feto, provocando la inhalación del líquido amniótico y resultando en una neumonía fetal), sin dar

tiempo a ser expulsado en el parto pudiendo comportarse como feto macerado, expulsándose varios días después de su muerte. En casos de sobrevivir es muy posible que muera en las primeras horas después del nacimiento debido a la neumonía desarrollado durante su vida fetal.

BLOOD *et al.* (1992), DINTER (1989), FAO/OMS (1986) y JUBB *et al.* (1993) En un estudio publicaron que en vacas vacías no hay una susceptibilidad particular a *Brucella abortus*; pudiendo desarrollar infecciones inmunizantes autolimitantes o convertirse en portadoras latentes. La infección frecuentemente permanece en la glándula mamaria y en los ganglios linfáticos supramamarios con excreción constante o intermitente de *Brucella* en la leche durante lactancias posteriores, aunque parece que no se elimina por orina o heces.

JUBB *et al.* (1993) y ALTON (1981) Manifestaron que no está claro si la *Brucella abortus* causa lesiones en las glándulas mamarias; sin embargo, las lesiones pueden ser leves con una mamitis focalizada con acumulación de linfocitos y células plasmáticas, pudiendo persistir durante meses o años.

BLOOD *et al.* (1992) y CORBEL (1991) Publicaron que el feto infectado con *Brucella abortus*, antes de morir atraviesa cambios tisulares que incluyen hiperplasia linfoide en múltiples ganglios linfáticos, hiperplasia de la corteza adrenal y focos inflamatorios diseminados llenos de grandes leucocitos mononucleares; la localización de los focos perivasculares en los septos

interlobulares del pulmón, provocan una neumonía fetal (bronconeumonía congestiva, exudación fibrinosa e infiltración celular), lo que marca la diseminación hematológica en el feto, es por aspiración de líquidos fetales contaminados.

JUBB *et al.* (1993) y CORBEL (1991) En trabajos realizados señalaron que luego del aborto ocurre una retención placentaria con infección bacteriana secundaria. Puede haber endometritis catarral o purulenta, generalmente acompañadas por lesiones extensas en el útero y oviducto, con formación de adherencias esterilizantes; clínicamente puede observarse material mucopurulento, marrón-amarillento, durante 1 o 2 semanas. En el momento del aborto, el feto y sus membranas contienen alrededor de 10^{14} /cc de bacterias y los fluidos aproximadamente 10^{12} /cc de bacterias.

JUBB *et al.* (1993) y CORBEL (1991) Indicaron que la patogenia de la enfermedad en los toros es similar al de las hembras, la bacteria ataca a los testículos y a las vesículas seminales por la presencia de eritritol acusando un engrosamiento con áreas de inflamación intersticial crónica y necrosis del epitelio tubular del epidídimo. Debido a que los toros alcanzan su madurez sexual antes que las vaquillas, los toros jóvenes parecen ser más susceptibles a la enfermedad, la infección neonatal puede ocurrir en los toros de igual forma que en las novillas; si se administra a los toros jóvenes una vacuna con cepa 19 de *Brucella abortus* esta puede persistir y producir lesiones en testículos

(orquitis) y vesículas seminales, de allí la razón de no vacunar con cepa 19 a los toros.

CORBEL (1991), JUBB *et al.* (1993) y BLOOD *et al.* (1992) Reportaron que los testículos, vesículas seminales y los epidídimos pueden verse engrosados con áreas de inflamación intersticial crónica y necrosis del epitelio tubular de las vesículas (vesiculitis seminal y ampulitis). Los epidídimos contienen granulomas múltiples con infiltración de células linfoides, plasmáticas y epiteloides que rodean a células gigantes; algunos granulomas pueden estar calcificados. En primeros estadios de la enfermedad los testículos pueden estar aumentados de tamaño pero más tarde se hacen pequeños debido a la contracción originada por el tejido fibroso y supresión de la espermatogénesis. Cuando la enfermedad se manifiesta clínicamente uno ó ambos testículos pueden aumentar de volumen, con disminución del libido e infertilidad.

2.1.4. Signos clínicos

MERCK (1993) Investigó que en brucelosis bovina el aborto es la manifestación más obvia de la enfermedad. También puede dar lugar a retención de placenta y menor producción de leche. En el toro, el agente se localiza en las vesículas seminales, los testículos y los epidídimos; en estos órganos produce proceso inflamatorio y luego constituye fuente de infección para las vacas.

IICA (1989) Citó que el signo predominante en vacas preñadas es el aborto, también puede ocasionar nacimiento de ternero prematuro, nacidos muertos o débiles. El aborto generalmente se produce en el segundo tercio de preñez, se acompaña con retención de placenta y en consecuencia cursa con metritis, este cuadro puede llevar a la infertilidad permanente. Se estima una pérdida de 20 – 25% en la producción de leche; por la interrupción del periodo de lactancia debido al aborto y afecta a la reproducción.

BLOOD *et al.* (1992) y MORROW (1989) Afirmaron que los signos clínicos depende del estado de inmunidad del rebaño, en hembras preñadas no vacunadas sobreviene el aborto pasado el quinto mes de gestación, registrándose de 2 – 3 abortos en la misma vaca, con secuelas de retención de placenta y metritis. En caso del toro se observa orquitis y epididimitis; la infección puede ser unilateral o bilateral y cursa con tumefacción aguda y dolorosa que persiste durante largo periodo y luego los testículos pueden necrosarse y fibrosarse y por ende los toros se vuelven estériles.

MERCK (1993) Refirió que en el toro las vesículas seminales, las ampollas, testículos y los epidídimos pueden estar infectados; como resultado el microorganismo es excretado en el semen. En estos pueden demostrarse aglutinas en el plasma seminal y pueden ocurrir abscesos en los testículos. La infección de larga duración puede resultar en articulaciones artríticas en algunas reces.

MONTES *et al.* (1997) En una investigación manifestaron que en humanos la brucelosis presenta manifestaciones clínicas muy polimorfas siendo muchas de ellas asintomáticas. La brucelosis aguda típica se manifiesta como una enfermedad febril de inicio agudo, con sudoración profusa, fiebre existente y predominio nocturno.

2.1.5. Diagnóstico

MERCK (1993) Señaló que el diagnóstico de la brucelosis bovina comúnmente se realiza mediante el examen serológico, esta prueba detecta la presencia de anticuerpos circulantes contra *Brucella abortus* en suero y plasma sanguíneo. Y también se puede realizar en leche, moco vaginal, suero ó plasma seminal. Actualmente existe una gran variedad de pruebas cada una de las cuales tiene sus propias limitaciones, aplicaciones y diferentes grados de sensibilidad y especificidad.

IICA (1989) Mencionó que la prueba serológica tiene como finalidad descubrir los animales infectados, conocer la prevalencia, distribución de *Brucella abortus* además en los países donde se ha conseguido la erradicación se usa para realizar la vigilancia epidemiológica, para evitar la reinfección.

ACHA y SZYFRES (1989) y BLOOD *et al.* (1992) Encontraron que el aislamiento y la identificación de *Brucella abortus* mediante los métodos bacteriológicos es el único método seguro, pero no se práctica con frecuencia,

en general se recurre a las pruebas serológicas. Son muchos los métodos de diagnóstico, todos ellos pueden ser útiles cuando se emplean con criterio técnico científico.

TIZARD (1995), FAO/OMS (1986) y NIELSEN *et al.* (1996) Citaron que entre las pruebas mas utilizadas en el diagnóstico individual de brucelosis bovina se emplean las siguientes pruebas : prueba del anillo en la leche, prueba de aglutinación en placa, prueba de aglutinación en tubo, prueba de fijación de complemento, prueba de Rosa de bengala y prueba de inmunoabsorcancia ligada a enzimas (ELISA). La prueba de fijación del complemento es la más confiable en términos de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico serológico de brucelosis, es aceptado como prueba confirmatoria de mayor valor que la aglutinación sérica en estudios precoces y tardíos de la enfermedad. Esta prueba mide los anticuerpos Ig G₁ y es capaz de medir niveles bastante bajos de anticuerpos, resultantes de la vacunación (Ig M, Ig A, Ig G) o de reacciones cruzadas por otros microorganismos. Como desventaja tenemos que es una técnica complicada, requiere de muchos reactivos, invierte mucho tiempo, es lenta, costosa, requiere de una incubación de un día para otro; además de no poder diferenciar una animal infectado de un reciente vacunado.

SAMARTINO (2001) Nombró que la técnica de fijación de complemento es de mayor eficacia que se emplea como definitiva por sus

sensibilidad y su gran especificidad. Sin embargo es una técnica engorrosa que requiere laboratorios de media complejidad para su realización.

TIZARD (1989) y FAO/OMS (1986) En un trabajo publicaron que las reacciones cruzadas a la prueba serológica se basan en la presencia de epitopes compartidos en la cadena o polisacáridos como suceden entre *Brucella abortus* y *Yersenia enterocolítica*, *Escherichia coli*, *Fracisella tularensis*, el grupo de las *Salmonellas*, *Pseudomona maltophilia* y *Vibrio cholerae*, que en el ganado bovino provocan reacciones falsos positivos en las pruebas serológicas que utilizan antígeno LPS, no pudiendo diferenciar los anticuerpos de las reacciones cruzadas de aquellas contra *Brucella abortus*, provocando serios problemas diagnósticas; así el animal puede estar infectado por *Yersenia enterocolítica* confundiéndosele por error con *Brucella abortus* y por esa razón decidir su sacrificio.

Prueba de aglutinación en placa

TIZARD (1989) y CORBEL (1991) Investigaron que esta prueba posee una especificidad y sensibilidad igual que la prueba en tubo, se basa en la aglutinación rápida del suero problema frente a la exposición con el antígeno de *Brucella abortus* sobre la placa. La prueba identifica IgM, IgG₂ y IgG₁. Es sencilla y más rápida que la prueba de aglutinación en tubo aunque en ciertas ocasiones puede encontrarse aglutinación en las dilusiones más altas, pero no en las más bajas. Esto es el llamado fenómeno de zona cuya explicación aún no se conoce.

Interpretación

Cuadro 1 . Bovinos no vacunados o vacunados a una edad mayor de 8 meses

1/25 25 UI/ml	1/50 50 UI/ml	1/100 100 UI/ml	1/200 200 UI/ml	Interpret.
-	-	-	-	neg.
	-	-	-	neg.
+	-	-	-	neg.
+		-	-	sosp.
+	+	-	-	sosp.
+	+		-	sosp.
+	+	+	-	posit.
+	+	+		posit.
+	+	+	+	Posit

Fuente : IICA (1989)

Cuadro 2 . Bovinos de 30 meses a mas vacunados a la edad de 4-8 meses.

1/25	1/50	1/100	1/200	Interpret.
25 UI/ml	50 UI/ml	100 UI/ml	200 UI/ml	
-	-	-	-	neg.
I	-	-	-	neg.
+	-	-	-	neg.
+	I	-	-	neg.
+	+	-	-	neg.
+	+	I	-	sosp.
+	+	+	-	sosp.
+	+	+	I	sosp.
+	+	+	+	Posit.

Fuente : IICA (1989)

+ = Aglutinación completa

I = Aglutinación incompleta

- = Negativo

UI = Unidades Internacionales

Precauciones

IICA (1989) Al momento de realizar la prueba de seroaglutinación en placa señaló que se debe tener en cuenta lo siguiente :

- Para la distribución del suero, sostener la pipeta en un ángulo de 45° con respecto al plano horizontal. Se a observado que algunos técnicos de

laboratorio sostienen la pipeta en posición casi horizontal con la placa, lo que permite que el suero se adhiera a los lados de la punta de la pipeta.

- No deben usarse pipetas de bocas anchas o rotas.
- Las gotas del antígeno deben dejarse caer en posición vertical.
- La mezcla del antígeno con el suero se debe empezar con la dilución mas alta (1/200 si se utiliza 4 diluciones) y la extensión de la muestra deberá graduarse desde un diámetro de 18mm hasta 27mm.
- La mezcla debe ser completa y homogénea.
- La placa debe estar protegida de la luz directa, si se deja la luz puede producir una evaporación excesiva lo que va a dificultar la interpretación de los resultados.

Resultados positivos

THRUSFIELD (1990) Indicó que un resultado positivo verdadero es consecuencia de una infección real. Los resultados falsos positivos se producen por diversas razones, pueden existir reacciones cruzadas de grupo entre un agente infeccioso y anticuerpos frente a distintos microorganismos con antígenos similares. Por otro lado, la infección por *Yersenia enterocolitica*, serotipo 9, puede dar lugar a la producción de anticuerpos que reaccionen de forma cruzada con los antígenos de *Brucella abortus*.

Resultados negativos

THRUSFIELD (1990) Refirió que un resultado negativo verdadero indica ausencia de la infección, los resultados falsos negativos por diversos motivos algunos animales presentan. Una tolerancia natural o inducida, realización de un prueba en un momento inadecuado, selección inadecuada de la muestra, supresión de inmuno globulinas inducida por antibióticos, técnicas poco sensibles.

2.1.6. Prevención y control

MERCK (1993) y BLOOD *et al.* (1992) Reportaron que no se conoce un tratamiento práctico, los esfuerzos se dirigen al control y a la prevención, la erradicación final de la enfermedad se basa en ensayos y eliminación de los reactores positivos a *Brucella abortus*. Para prevención de la enfermedad se realiza las vacunaciones de terneras de 4 – 8 meses de edad, con *Brucella abortus* cepa 19 (Bacteria viva atenuada). Otra vacuna que se usa en varios países es la cepa 45/20 (bacteria viva). Puede ser aplicada a animales en gestación y a cualquier edad.

MONTES *et al.* (2000) Mencionaron que el objetivo básico para controlar la infección en los humanos es erradicar el microorganismo de la especie animal, lo cual se logra con la vacunación sistemática del ganado o su sacrificio en el caso de confirmarse infección por *Brucella*.

SCHURIG *et al.* (1995) En una de sus publicaciones citaron que la vacuna *Brucella abortus* cepa RB51 es una mutante natural, rugosa, adecuada y estable de la cepa 2308. Esta vacuna viva no induce títulos positivos, pudiendo aplicarse múltiples veces y a cualquier edad, utilizando varias rutas de administración. La vacuna induce inmunidad contra *Brucella abortus* en el bovino, la posibilidad de aborto en vacas preñadas es un evento poco común.

PALMER *et al.* (1997) Sin embargo estudios recientes prueban que de manera experimental que la vacuna RB51 produce placentitis, mamitis y endometritis. A pesar de ello la cepa RB51 es menos patógena que la cepa 19, pero infecta a la placenta, glándula mamaria y al feto, induce placentitis y puede llevar a la expulsión temprana del feto.

CHEVILLE *et al.* (1996) En un trabajo de investigación midieron que el efecto de la edad en los animales al momento de la vacunación con cepa RB51 protege en terneras de 3 a 10 meses de edad a dosis comparables con cepa 19. La inmunogenisidad y la deficiencia para inducir la producción de anticuerpos que interfieran con el diagnóstico serológico de las infecciones naturales por *Brucella abortus* hace de la cepa RB51 una vacuna eficaz.

2.2. Importancia económica

ACHA y SZYFRES (1989) Señalaron que la *Brucella abortus* es causante de grandes pérdidas económicas que se estiman en 600 millones de dólares al año solamente en América Latina.

BLOOD *et al.* (1992) Citaron que estas pérdidas son debido principalmente a la disminución de la producción de leche como consecuencia de los abortos en las vacas, pérdida de becerros y la no concepción. Siendo esto de gran importancia en los hatos destinados a la producción de carne, gastos innecesarios en el tratamiento y profilaxis, por la desvalorización de los reproductores y por la gran dificultad para la comercialización.

IICA (1989) Publicó que la brucelosis bovina existe en todo el mundo y la prevalencia más alta se observa en el ganado lechero; en muchos países incluidos la mayoría de América Latina que no tienen programas de prevención y/o control de la enfermedad.

SENASA (1999) Reportó que en Argentina se ha estudiado una pérdida económica aproximado de 66 millones de dólares por año, por brucelosis en animales.

SAMARTINO (2001) Dio a conocer que la infección en el ser humano causa grandes pérdidas, estas pérdidas se deben a : los costos de diagnóstico clínico y de laboratorio, costo de medicamentos, internación,

indemnizaciones y juicios laborales. En 1990 en un estudio realizado en Argentina se estimó a 24 millones de dólares las pérdidas anuales por brucelosis humana. La brucelosis afecta también severamente la salud animal ocasionando generalmente aborto en la mayoría de las especies domésticas, generando un impacto económico negativo en la industria ganadera debido a las importantes pérdidas originadas en la disminución de carne, leche y de los valores de venta de los animales infectados. También menciona que el costo del tratamiento en humanos varía en cada país y dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Sin embargo en USA se demostró el costo de 340 dólares en pacientes sin complicaciones y pudiendo alcanzar los 4,095 dólares en casos muy graves.

2.3. Prevalencia de brucelosis bovina en latinoamérica

CARRASCO *et al.* (1995) Estudios realizados en el año 1994 en la provincia de Río Negro, Argentina donde se evaluaron la respuesta inmune humoral utilizando cuatro técnicas de ELISA en 16 terneras Hereford vacunados aproximadamente a los 5 meses de edad con dosis estándar de vacuna *Brucella abortus* cepa 19. El suero se analizó en 18 ocasiones (incluyendo 2 prevacunación), y se llegó a los siguientes resultados: En todas las técnicas previo a la vacunación todos los animales resultaron negativos y en el primer muestreo post vacunal todos resultarán positivos. En las distintas técnicas el porcentaje de positividad decreció y se negativizó totalmente a distintos tiempos postvacunación.

UZAL *et al.* (1998) Manifestaron que en estudios realizados en donde se evaluaron un kit de enzimoimmunoensayo indirecto en el diagnóstico de brucelosis bovina en 5 países latinoamericanos (Argentina, Brasil, Chile, México y Uruguay) en cada país se procesaron 3 categorías de sueros: sueros de hatos negativos no vacunados, sueros de hatos negativos vacunados y sueros de hatos infectados. La Especificidad calculada con sueros de animales negativos no vacunados varía entre 94.9% y 99.6%, mientras que para animales vacunados varió entre 90.4% y 97.4%. La sensibilidad varió entre 98.7% y 100% para animales infectados.

ZAMBRANO *et al.* (1995) Debido a que las vacas preñadas son muy susceptibles a *Brucella abortus* se hicieron un trabajo en el Instituto nacional de higiene y medicina tropical Guayaquil – Ecuador, para comparar los efectos de las vacunas cepa 19 y RB51. Tres vacas sirvieron como control seis recibieron vacuna cepa 19 en concentración de 4×10^7 y seis recibieron vacuna cepa RB51 en concentración de 5×10^7 . Las vacas preñadas que fueron vacunadas con cepa 19 mostraron seroconversión y una vaca abortó aislándose *Brucella abortus* cepa 19 del feto y las vacas preñadas que recibieron vacuna cepa RB51 no mostraron ni seroconversión ni abortaron.

IICA (1989) Investigó que la prevalencia mas alta en el hombre se encuentra en los países con tasa elevadas de brucelosis por *Brucella melitensis*, en caprinos u ovinos o en ambas especies. En América Latina los países donde se registra el mayor numero de casos son: Argentina México y

Perú. Lo mismo sucede entre otros en los países que bordean el mar Mediterráneo, Irán, sudeste de la URSS y Mongolia.

SAMARTINO (2001) Estudió que en Latinoamérica la brucelosis bovina esta presente en todos los países, algunos como México y Perú con alta prevalencia (> 10% y otros como Uruguay cuya prevalencia es bajísima < 1%); pero aun se manifiesta brotes aislados. Perú y México tiene la incidencia mas alta de brucelosis caprina y en los otros países excepto Brasil, Chile, Uruguay, Venezuela; que no reportan casos de la presencia de *Brucella melitensis* esta confirmado pero sin datos concretos.

2.4. Prevalencia de brucelosis bovina en el Perú

MINAG (1995) y LÓPEZ *et al.* (1995) Evaluaron que la brucelosis es una enfermedad infecciosa y zoonótica, en el país la prevalencia de brucelosis varía de acuerdo a las zonas geográficas como son la costa, sierra, selva y el tipo de crianza intensiva y/o extensiva (cuadro 3). Además en el país existe reglamento oficial para control y/o erradicación de brucelosis bovina desde 1,985. Sin embargo este reglamento está desactualizado y no contempla métodos y reglamentaciones adecuadas para la lucha y control de esta enfermedad.

NIELSEN *et al.* (1996), TIZARD (1995), FAO/OMS (1986), BLOOD *et al.* (1992) y SAMARTINO (2001) Midieron que para el diagnóstico de la brucelosis existen varias pruebas, como son pruebas aglutinantes como prueba

de aglutinación en tubo, placa y prueba del anillo en leche, estas pruebas tienen ventajas en su uso porque son rápidas y no requieren sofisticación de laboratorio, se usa para monitoreo epidemiológico. Pero estas pruebas no tienen alta sensibilidad ni especificidad para lograr un buen diagnóstico, se debe combinar con otras pruebas como fijación de complemento y prueba de inmunoabsorcancia ligada a enzimas (ELISA). Pero estas pruebas no está al alcance de los ganaderos, por su alto costo y necesita equipos sofisticados.

ZUIKO (1971) Reportó que en estudios realizados sobre la difusión de la brucelosis bovina mediante la prueba de aglutinación en placa, en la provincia de Leoncio Prado en el año 1971 reportaron de 1044 bovinos muestreados correspondientes a los 6 distritos el 0.95% positivos, 9.67% sospechosos y 89.37% negativos respectivamente.

BAIQUE (1985) Mencionó que estudios realizados en el distrito de San Andrés, provincia de Cutervo, departamento de Cajamarca donde se evaluaron 260 bovinos adultos y se encontraron 3.85% de *Brucella abortus* siendo la raza con mayor prevalencia Brown swiss y Holstein, en animales de 3 – 6 años de edad.

SANDOVAL *et al.* (1996) En el Perú la enfermedad es de tipo enzoótico y de gran impacto en la industria bovina. En un trabajo realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos donde se colectaron 724 sueros de bovinos, de distintas regiones del país donde se encontraron una

prevalencia de 17.30% de *Brucella abortus*, mediante la prueba de aglutinación en placa y 21.4% de *Brucella abortus* por la prueba de ELISA indirecta. En nuestro país con la finalidad de disminuir los resultados falsos positivos y/o negativos, se viene validando esta prueba. Representa una sensibilidad de $96.44 \pm 2.2\%$ y una especificidad de $96.35 \pm 3.1\%$.

ZAPATA (1998) En un estudio realizado en el centro poblado menor de Obenteni – gran pajonal (Pucallpa) donde se estudiaron 408 animales entre vaquillonas y vacas donde se encontró 0.0% de *Brucella abortus* mediante la prueba de ELISA indirecta.

CRUZ (1996) Señaló que un estudio realizado en el valle del Mantaro donde se colectaron 360 muestras donde se encontraron una prevalencia de 0.28% de *Brucella abortus* mediante la prueba de aglutinación en placa y Rosa de bengala.

BRUZONE (1986) Manifestó que un estudio realizado en el departamento de San Martín se colectaron 290 muestras y encontrándose 4.87% de *Brucella abortus* mediante la prueba de aglutinación en placa.

QUISPE *et al.* (2001) Estudiaron la evaluación de la infección por *Brucella ovis* en carneros en época de empadre donde se utilizó una punta de carnero (n = 250), de una empresa de la sierra central del país (SAIS PACHACUTEC). Estos animales fueron examinados clínicamente y

serológicamente, al ingreso de la campaña ningún animal tenía evidencias clínicas de la enfermedad (epididimitis), sin embargo un elevado porcentaje $58.72\% \pm 7.36\%$ eran positivos a la prueba de ELISA indirecta. Después de 30 días de inicio del empadre $13.2\% \pm 4.2\%$ mostraron evidentes lesiones clínicas; al término de la campaña $28.4\% \pm 5.59\%$ tuvieron que ser eliminados por lesiones testiculares evidentes. Y los exámenes de ELISA demostraron $74.4\% \pm 6.52\%$ de positividad. Estos estudios de campo evidencian una rápida evolución de un estado de seropositivos a animal clínicamente enfermo.

Cuadro 3 . Prevalencia de *Brucella abortus* en el Perú.

Año	Lugar de Estudio	Nº de Muestras	Reactores Positivos	%	Fuente/Autor
1967	País	5,462	519	10.00	Escalante J.
1967	Lima	11,043	4,981	45.00	Escalante J.
1970	Alto Piura	6,293	202	3.21	IVITA
1970	Piura	--	41	12.50	IVITA
1971	País	10,493	293	3.00	M. Agricultura
1972	País	11,030	474	4.00	M. Agricultura
1973	Lima – Ica	9,866	117	1.19	IZIP
1973	Pucallpa	2,392	13	0.50	IVITA
1973	Arequipa – Cajamarca	10,411	139	1.33	M. Agricultura
1973	Trujillo	101	21	20.79	IZIP
1984	Cajamarca	10,500	525	5.00	M. Agricultura
1984 – 86	San Martín	2,790	136	4.87	Bruzzone
1987	Piura	50	5	10.00	(MINAG)
1987	Lima	1,322	18	1.36	IZIP
1987 – 93	Arequipa	40,449	64	0.16	IZIP
1988	Cajamarca	6,581	15	0.22	MINAG – IVITA
1988	Lima	3,552	29	0.82	M. Agricultura
1990	Cajamarca	300	10	3.00	IZIP
1992	Pucallpa	649	9	2.92	Lialle D.
1993 – 94	Huancayo	360	3	0.83	Trigueros
1998	Obenteni (Ucayali)	408	0	0.00	(IVITA) Cruz Ortiz J. Zapata F.

IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones y de Altura-FMV-UNMSM)

IZIP (Instituto de Zoonosis e Investigaciones Pecuarias)

MINAG (Ministerio de Agricultura)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización y duración del trabajo experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en la provincia de Leoncio Prado en los distritos de Rupa Rupa, Padre Felipe Luyando, José Crespo Castillo, Mariano Dámaso Beraún, Daniel Alomías Robles y Hermilio Valdizán; departamento de Huánuco.

Geográficamente se localiza a 9° 17' 58" de latitud sur y 76° 1' 7" de longitud oeste a 660 m.s.n.m., una temperatura media anual de 24°C, una precipitación pluvial de 3200 mm³ al año y una humedad relativa de 84%; y ecológicamente está considerado como bosque húmedo premontano subtropical.

El trabajo experimental tuvo una duración de cuatro meses de diciembre 2000 a marzo de 2001.

3.2. Animales

En el estudio se utilizó 275 animales de una población en riesgo de 1364 vacas en ordeño (fuente : Agencia Agraria Leoncio Prado. 1989), esto representa el 20.16% de la población total de animales entre los 6 distritos en

la provincia de Leoncio Prado. Se consideró las razas Holstein (H), Brown swiss (BS) y Cruzadas (C) siendo la mayoría de las vacas cruzadas (H x BS, H x C y BS x C). Ver (cuadro 10 Anexo). También se consideró vacas del 1º parto al 8º parto.

3.3. Alimentación

La alimentación de los vacunos en la provincia de Leoncio Prado es a base de pastura natural y cultivada. En algunas ocasiones con suplementación de sales minerales, alimento concentrado o residuos de cosechas.

3.4. Materiales

3.4.1. Materiales de campo

Los materiales usados en el campo fueron: sogas, naricera, alcohol, algodón, agujas hipodérmicas nº 18 x 1 ½ y tubos de ensayo de 10 ml.

3.4.2. Materiales, equipos y reactivos de laboratorio

Los materiales, equipos y reactivos de laboratorio fueron : centrífuga, refrigerador, placa de vidrio, micropipeta 5 - 50 microlitos, palito de diente, tips, suero sanguíneo y antígeno (*Brucella abortus* cepa 1119 - 3).

3.5. Variables :

3.5.1. Variables independientes

Presencia de anticuerpos *Brucella abortus* en suero sanguíneo de ganado bovino lechero.

- ✓ Número de parto.
- ✓ Raza.

3.5.2. Variables dependientes

Seroaglutinación de la *Brucella abortus* en ganado bovino lechero

- ✓ Positivo a la prueba +++, +++++; sospechosos + I, ++ y negativo I, +.
- ✓ Porcentaje de animales prevalentes.

3.6. Metodología

3.6.1. Tipo de estudio

Se utilizó el estudio descriptivo transversal.

3.6.2. Tamaño muestral

Para la determinación del tamaño muestral se utilizó el método de muestreo aleatorio simple, y tomando una prevalencia referencial de 17.3% reportada de distintas regiones del país con un nivel de confianza de 95% (SANDOVAL *et al.*, 1996) Para la determinación del tamaño muestral se utilizó la fórmula de (GARCÍA, 1990).

$$n = \frac{z^2 \times pq}{d^2}$$

Donde :

n = Tamaño muestral a ser estudiado.

$Z = 1.96$ (95% de confianza).

p = Prevalencia referencial (0.173).

$q = 1 - p$ (0.827 complemento de la prevalencia referencial).

$d = 0.05$ (error máximo permisible).

Reemplazando :

$$n = \frac{1.96^2 \times (0.173)(0.827)}{(0.05^2)}$$

$$n = 220$$

El tamaño de la muestra representa el número mínimo de animales a muestrearse, para una mejor cobertura fueron estratificados entre los 6 distritos, para obtener el tamaño muestral por distritos se utilizó la fórmula de (HERNÁNDEZ *et al.*, 1991).

$$n_h = \frac{n}{N} \times N_h$$

Donde :

n_h = Tamaño de la muestra para cada estrato.

n = Tamaño muestral a ser estudiado.

N = Población conocida (1364).

N_h = Sub población conocido (distritos).

Cuadro 4 . Distribución de vacas según distritos y muestreos en la provincia de Leoncio Prado.

Distritos	Población	Muestras	Muestras
	Total	Estratificadas	Trabajadas
J.C.Castillo	446	72	90
Rupa Rupa	116	19	23
P.F.Luyando	255	41	51
M.D.Beraúm	392	63	79
D.A. Robles	85	14	17
H.Valdizán	70	11	14
Total	1,364	220	275

Fuente : Agencia Agraria Leoncio Prado (1989)

3.6.3. Toma de muestras

Las muestras de sangre fueron obtenidas en las primeras horas del día, de la vena yugular aproximadamente 7 a 8 ml de sangre utilizando agujas hipodérmicas nº 18 x 1½, en tubos de ensayo estériles; luego fueron rotulados y llevados al laboratorio de sanidad animal de la Facultad de Zootecnia – UNAS donde permanecieron en refrigeración, con una inclinación de 45° con respecto al plano horizontal por espacio de 24 horas. Luego se procedió a separar el suero en frasquitos estériles con tapa para ser conservados en congelación hasta el momento del procesamiento serológico.

3.6.4. Análisis de muestras

Las muestras se analizaron en el laboratorio de sanidad animal de la Facultad de Zootecnia – UNAS mediante la prueba de aglutinación en placa.

Prueba de seroaglutinación en placa

Las muestras de suero y reactivo *Brucella abortus* cepa 19, antes de efectuar la prueba serológica, se llevó a temperatura ambiente por espacio de media hora. (OIE, 1996).

- Con una pipeta de Bang (0.2 ml) sostenida en posición oblicua de 45° con respecto al eje horizontal y tocando la placa de vidrio, se colocó 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml de suero en cuatro casilleros de 4 x4 cm en una misma hilera de la placa. Las diluciones del suero corresponden a 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200.
- Luego se agitó suavemente el frasco de antígeno para lograr una suspensión homogénea y con un gotero se dejó caer una gota de antígeno (0.03 ml) en cada recuadro.
- Empezando por la mayor dilución 0.005 ml de suero se hizo, por medio de movimientos circulares, una mezcla con el antígeno, usando un palito de diente por cada muestra observándose aproximadamente las áreas siguientes :

1/25 = 27 mm de diámetro.

1/50 = 24 mm de diámetro.

1/100 = 21 mm de diámetro.

1/200 = 18 mm de diámetro.

- Dado a que la mayoría de las muestras llegan a su punto más elevado de aglutinación a los 8 minutos de incubación, se realizó la lectura inclinando ligeramente la placa y realizando movimientos circulares para permitir que la mezcla fluya de un lado a otro. Se hicieron 3 clasificaciones.

+ = Aglutinación completa.

I = Aglutinación incompleta.

- = Sin aglutinación.

Interpretación de la prueba

Para la interpretación de la prueba de aglutinación en placa se utilizó el cuadro 1 (bovinos no vacunados o vacunados a una edad mayor a 8 meses), según (IICA, 1989).

3.6.5. Análisis estadístico

Se utilizó D.C.A. con diferentes números de muestras.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Donde :

Y_{ij} = Observación de una unidad experimental.

μ = Media general.

α_i = Efecto de la i -ésima reacción (negativo, sospechoso y positivo).

ϵ_{ij} = Error experimental.

3.7. Prevalencia

$$P = \frac{\text{casos positivos}}{\text{Total de individuos en riesgo}} \times 100\%$$

$$P = 0.29\%$$

IV. RESULTADOS

Cuadro 5 . Seroprevalencia de *Brucella abortus* en la provincia de Leoncio Prado.

Interpretación	N	Prevalencia		% P
		n	%	P. L. Prado
Negativo	-	265	96.36	-
Sospechoso	-	6	2.18	0.44
Positivo	-	4	1.45	0.29
Total	1364	275	100.00	0.29

(P < 0.05)

N = Población total en riesgo.

n = Muestra estudiada.

%p = Prevalencia en la provincia de Leoncio Prado.

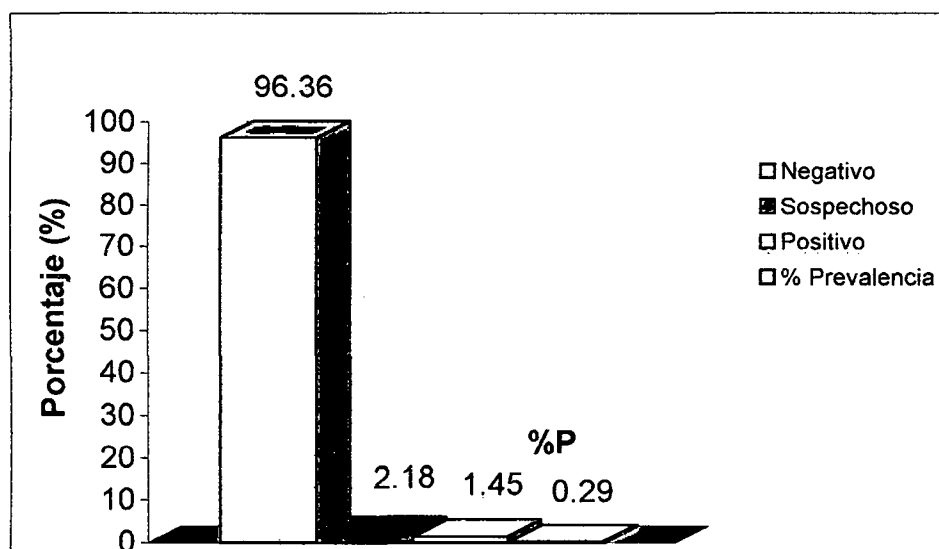


Figura 1 Seroprevalencia de *Brucella abortus* en la provincia de Leoncio Prado

En el cuadro 5 y figura 1 se observa la seroprevalencia de *Brucella abortus* en la provincia de Leoncio Prado, de 275 muestras de suero sanguíneo analizados, cuatro fueron positivos a la prueba serológica, mostrando una prevalencia de 0.29% ($p < 0.05$) y 0.44% de sospechosos en base a 6 muestras obtenidas.

Cuadro 6. Seroprevalencia de *Brucella abortus* por distritos en la provincia de Leoncio Prado.

Distritos	Población en Riesgo	Prevalencia %	
		Positivos	%
J.C. Castillo	446	1	0.22
Rupa Rupa	116	1	0.86
P.F. Luyando	255	--	--
M.D. Beraún	392	2	0.51
D.A. Robles	85	--	--
H. Valdizan	70	--	--
Total	1,364	4	0.29

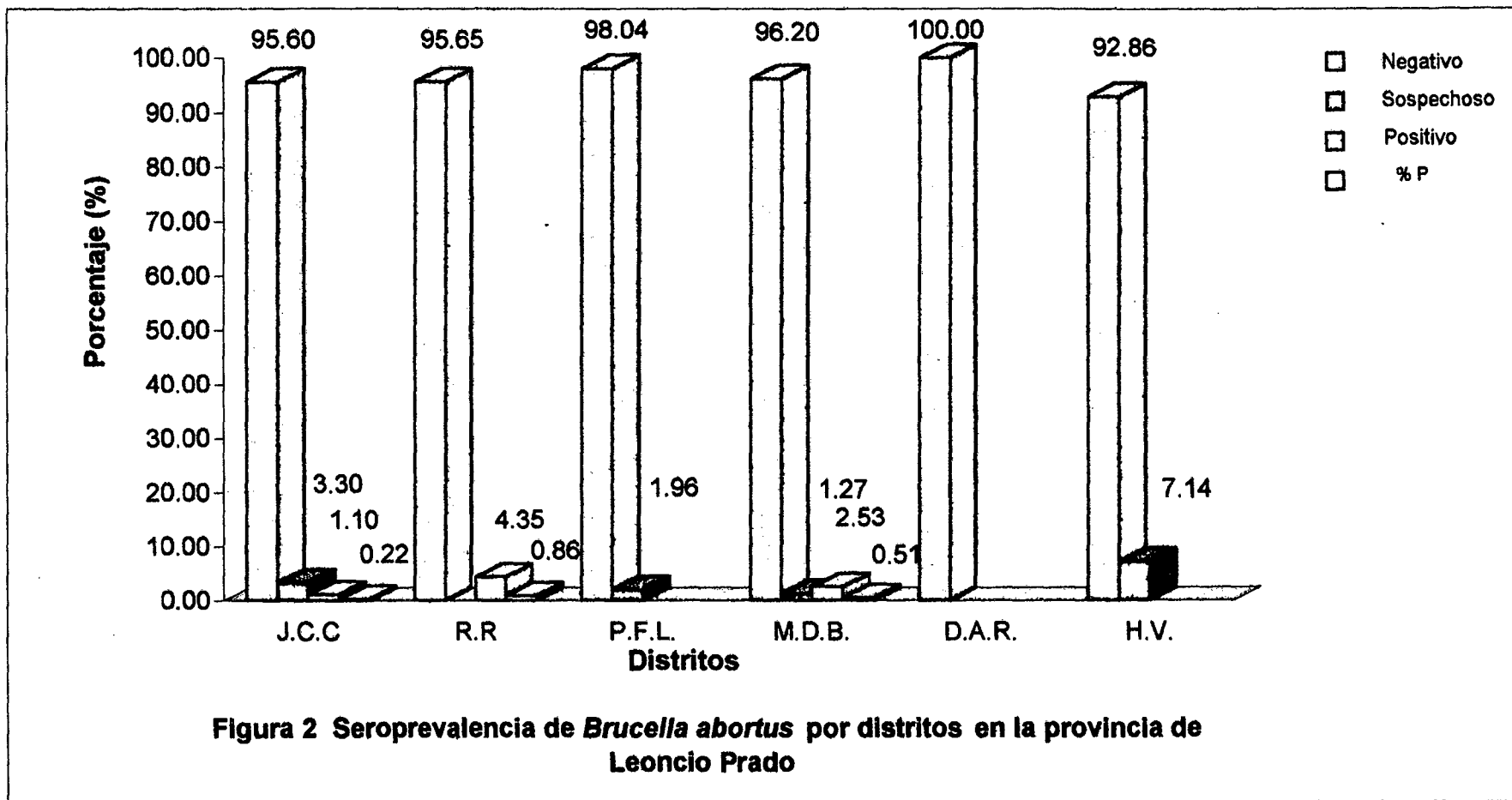
(P < 0.05)

En el cuadro 6 y figura 2 se observa la seroprevalencia de *Brucella abortus* por distritos; de 275 muestras de suero sanguíneo y una población vacuna en riesgo es 1,364 animales, la prevalencia para los distritos de José Crespo Castillo, Rupa Rupa y Mariano Dámaso Beraúm fueron : 0.22%, 0.86% y 0.51% respectivamente.

En el cuadro 7 se observa el análisis serológico de 275 muestras de suero sanguíneo mediante la prueba de aglutinación en placa y los resultados obtenidos en promedio para negativos, sospechosos y positivos fueron : 96.39%, 2.28% y 1.33% respectivamente. Los positivos se observan en los distritos de José Crespo Castillo y Rupa Rupa, los sospechosos se observan en los distritos de José Crespo Castillo, Padre Felipe Luyando, Mariano Dámaso Beraúm y Hermilio Valdizán.

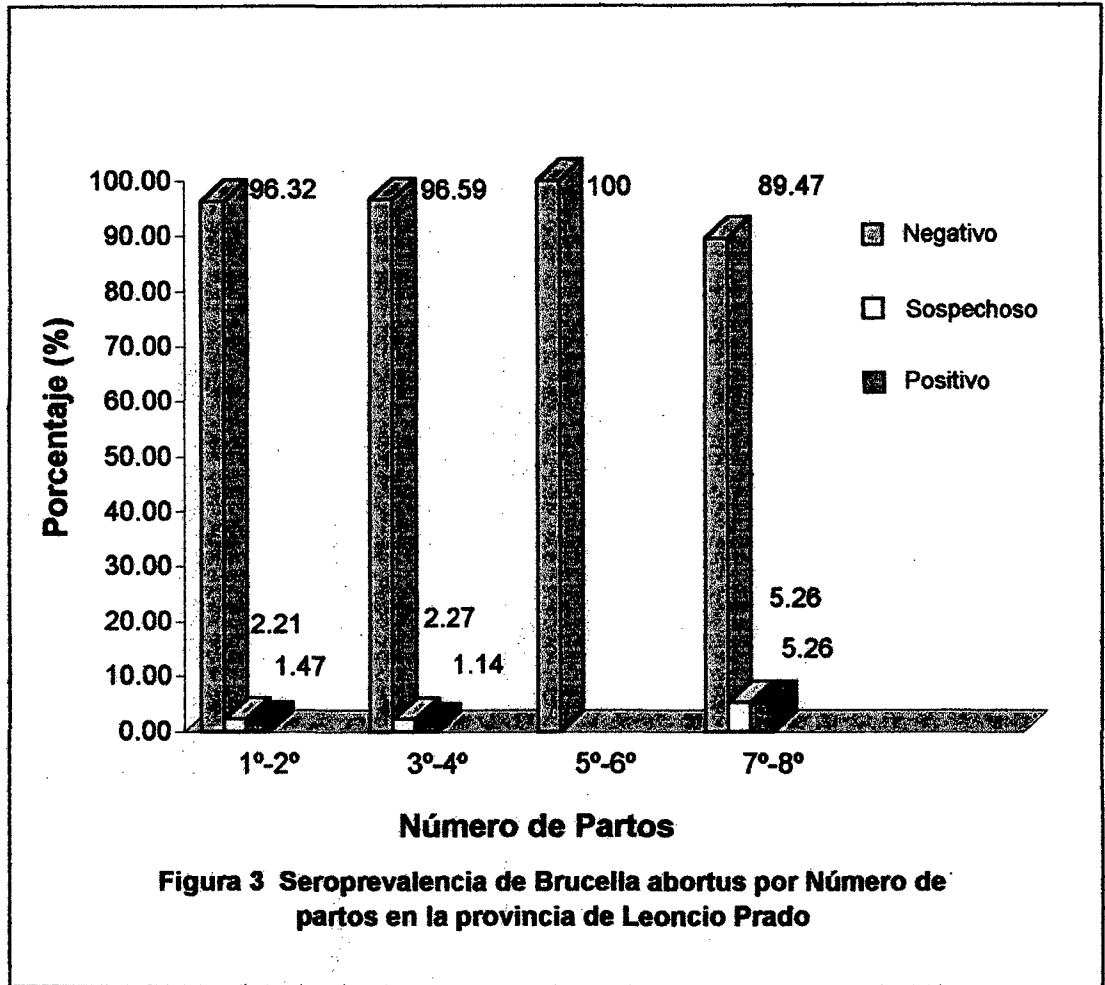
Cuadro 7 . Análisis serológico de *Brucella abortus* mediante la prueba de aglutinación en placa en la provincia de Leoncio Prado

Distritos	Población en Riesgo	Tamaño Muestral	Resultados					
			Negativo	%	Sospechoso	%	Positivo	%
J.C. castillo	446	91	87	95.60	3	3.30	1	1.10
Rupa Rupa	116	23	22	95.65	--	--	1	4.35
P.F. Luyando	255	51	50	98.04	1	1.96	--	--
M.D. Beraún	392	79	76	96.20	1	1.27	2	2.53
D.A. Robles	85	17	17	100.00	--	--	--	--
H. Valdizan	70	14	13	92.86	1	7.14	--	--
Total	1364	275	265	--	6	--	4	--
\bar{X}	--	--	--	96.39	--	2.28	--	1.33



Cuadro 8 . Seroprevalencia de *Brucella abortus* por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.

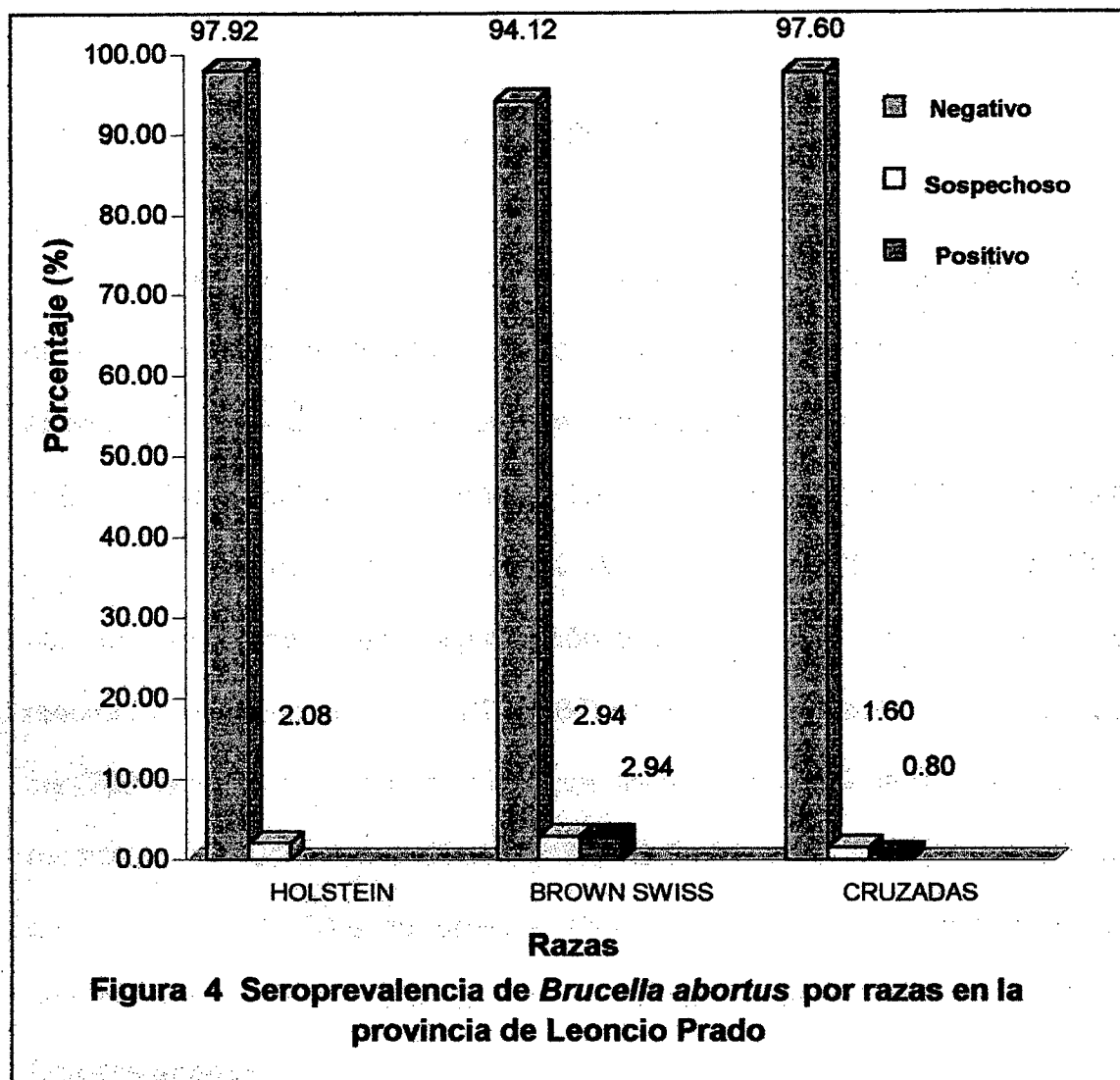
Interpretación	Animales		Partos							
	Muestreados		1° 2°		3° 4°		5° 6°		7° 8°	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Negativo	265	96.36	131	96.32	85	96.59	32	100.00	17	89.47
Sospechoso	6	2.18	3	2.21	2	2.27	--	--	1	5.26
Positivo	4	1.45	2	1.47	1	1.14	--	--	1	5.26
Total	275	--	136	--	88	--	32	--	19	--



Según el cuadro 8 y figura 3 se observa el porcentaje de la seroprevalencia de *Brucella abortus* por número de parto en la provincia de Leoncio Prado. Los resultados positivos se encuentran en los animales de 1°, 2°, 3°, 4°, 7° y 8° parto y mayor porcentaje de sospechosos se registra en el 7° y 8° parto.

Cuadro 9 . Seroprevalencia de *Brucella abortus* por razas en la provincia de Leoncio Prado

Interpretación	Animales							
	Muestreados		Holstein		Brown Swiss		Cruzadas	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Negativo	265	96.36	47	97.92	96	94.12	122	97.60
Sospechoso	6	2.18	1	2.08	3	2.94	2	1.60
Positivo	4	1.45	--	--	3	2.94	1	0.80
Total	275	--	48	--	102	--	125	--



Según el cuadro 9 y figura 4 se observa la seroprevalencia de *Brucella abortus* por razas en la provincia de Leoncio Prado, los resultados positivos se observan en las razas Brown swiss y cruzadas en : 2.94% y 0.80% respectivamente. Y los sospechosos se observan en las tres razas estudiadas.

V. DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio en la provincia de Leoncio Prado y sus seis distritos la prevalencia de *Brucella abortus* mediante la prueba serológica aglutinación en placa fue de 0.29%, ($P < 0.05$). Este resultado es menor a los obtenidos por (ZUIKO, 1971) quien encontró una prevalencia de 0.95% del *Brucella abortus* en Tingo María utilizando la misma prueba (aglutinación en placa). Pero no concuerda con los resultados obtenidos por (BAIQUE, 1985) en un trabajo realizado en Cajamarca con 260 vacunos adultos obtuvo una prevalencia de 3.85% de *Brucella abortus*, mediante la prueba en mención y (SANDOVAL *et al.*, 1996) encontró una prevalencia de 17.30% de *Brucella abortus* en distintas regiones del país y encontró mediante la prueba de ELISA indirecta una prevalencia de 21.40% de *Brucella abortus*.

Sin embargo los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los obtenidos por (CRUZ, 1996) en el valle del Mantaro con 360 vacas obtuvo una prevalencia de 0.28%, ($P < 0.05$).

En la provincia de Leoncio Prado desde el estudio realizado por (ZUIKO, 1971) no existe variación, la prevalencia de brucelosis bovina se

mantiene menor a 1%. Se acepta la hipótesis planteada en el trabajo de investigación, esta baja prevalencia se debe porque la crianza de ganado en los últimos años sufrió retroceso por varios factores, dentro de ellos tenemos problemas sociales, no se introdujo a la zona animales mejorados, ni existe crianza tecnificada, el tipo de crianza es extensiva y la ganadería principalmente está en manos de pequeños criadores.

Según el cuadro 3 la prevalencia de brucelosis bovina en la amazonía es menor en comparación con la costa peruana, las razones se deben al sistema de crianza; además cabe indicar que la prevalencia a decrecido en los últimos años (ZAPATA, 1998; BRUZONE, 1986 y TRIGUEROS, 1992) esto debido a que los criadores de ganado adoptan medidas preventivas antes de introducir animales a sus hatos realizan cuarentena y pruebas serológicas, solamente introducen animales negativos a sus hatos.

Al comparar nuestros resultados con la prevalencia de 4.87% obtenidos por (BRUZONE, 1986) mediante la prueba de aglutinación en placa es menor, muy a pesar de que las condiciones de clima, topografía, alimentación son similares en ambos estudios, esta diferencia se explica porque en esa zona han introducido animales procedentes de zonas enzoóticas de Brucella.

Además los resultados obtenidos en el estudio es mayor a los obtenidos por (ZAPATA, 1998) mediante la prueba en vaquillonas y vacas del centro poblado menor de Obenteni – gran pajonal la prevalencia fue de 0% ($P < 0.05$) mediante la prueba de ELISA indirecta. Este resultado se puede explicar porque a la zona el ingreso de animales portadores sospechosos ha sido prácticamente nulo ; además de la falta de vías de comunicación como carreteras ó transporte pluvial que disminuye aún más la posibilidad de ingreso de la enfermedad.

En el presente estudio el resultado de sospechosos fue de 2.18% y su prevalencia es 0.44% (cuadro 6), al buscar explicaciones para dichos resultados podríamos mencionar como causal a reacciones cruzadas con bacterias relacionadas serológicamente con la *Brucella abortus* , *Escherichia coli*, *Francinella tularencis*, el grupo de las *Salmonellas*, *Pseudomona maltophilia*, *Vibrio cholerae* o *Yersenia enterocolítica* como lo indican : (TIZARD, 1989; FAO/OMS, 1986 y THRUSFIELD, 1990).

Según el cuadro 8 la prevalencia de brucellosis bovina en la provincia de Leoncio Prado fue 5.26% para animales de 7° 8° parto. Este alto porcentaje se debe principalmente al agotamiento de su inmunidad celular y humoral, entonces el organismo queda expuesta a contraer agentes infecciosos patógenos como la *Brucella abortus* como lo indican : (ALTON, 1981 y BLOOD *et al.*, 1992).

Según el cuadro 9 la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia de Leoncio Prado para la raza Brown swiss fue de 2.94%. Estos resultados es menor a los obtenidos por (BAIQUE, 1985) quien en la provincia de Cutervo (Cajamarca) encontró una prevalencia mayor de *Brucella abortus* en esta raza. Esto nos indica que los ganaderos introducen a la zona, esta raza por que son razas que se adaptan bien a diferentes climas y son animales de doble propósito, los ganaderos utilizan para mejoramiento genético, realizan cruzamiento con razas cebuinas.

VI. CONCLUSIONES

- El mayor porcentaje de los animales sometidos a la prueba presentaron resultados negativos y en pequeñas proporciones se encontraron animales sospechosos y positivos.
- La población de ganado de la provincia de Leoncio Prado no está en riesgo para contraer *Brucella abortus*.
- La seroprevalencia de *Brucella abortus* en etapa de lactación de las vacas en la provincia de Leoncio Prado, es baja.
- De las razas evaluadas la raza Brown swiss presentó mayor seroprevalencia.
- En animales de séptimo y octavo parto se observó una seroprevalencia alta.

VII. RECOMENDACIONES

- Se debe efectuar un programa de capacitación a los ganaderos sobre las consecuencias de esta enfermedad por ser de carácter zoonótico.
- El Ministerio de agricultura (SENASA) u otras instituciones realicen estas evaluaciones utilizando otras pruebas mas específicas y sensibles (ELISA y fijación de complemento) especialmente en centros ganaderos donde se dedica a la transformación de leche para consumo humano.
- Mantener vigilancia epidemiológica a los animales reactivos positivos y sospechosos para evitar la difusión de la enfermedad por ser zoonótico.
- Los fundos ganaderos de la provincia de Leoncio Prado deben reportar y enviar muestras de abortos para estudios microbiológico y serológico.
- Debe establecerse un programa de vigilancia epidemiológica, a través de un monitoreo en animales que se comercialicen o sean destinados a camales, utilizando pruebas de aglutinación en placa o Rosa de bengala.
- Los animales positivos someterlos a nuevo examen, si dan nuevamente positivos se destinan para el camal.

VIII. ABSTRACT

The present study was carried out in the districts, Jose Crespo Castillo, Rupa Rupa, Padre Felipe Luyando, Mariano Damaso Beraun, Daniel Alomias Robles and Hermilio Valdizan of province of Leoncio Prado; with the goal to determine that there is not *Brucella Abortus* in dairy herd (bovine cattle) in lactation season by agglutination test in plate. In this study were used 275 samples of blood serum of a population in risk of 1,365 cows, the observed animals were the races of Holstein, Brown swiss and crossed from 1st to 8th breeding (birth). The obtained result in seroprevalence of *Brucella abortus* in province of Leoncio Prado was 0.29% ($p < 0.05$). It was concluded that the bovine brucellosis in Leoncio Prado is $< 1\%$. Therefore it should be realized strict epidemic control in order to not increase the bovine brucellosis in the cattle farms in province of Leoncio Prado.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- ACHA, N., SZYFRES, D. 1989. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington, EE.UU. Organización Mundial de la Salud. Pp. 14 – 34.
- AGENCIA AGRARIA LEONCIO PRADO. 2,000. Programa de producción pecuaria según principales especies. Ministerio de Agricultura. Boletín Técnico. 6 p.
- ALTON, G. 1981. La lucha contra la brucelosis bovina, acontecimientos recientes. Rev. Mund. de Zootecnia, París, Francia. 39 : 17 – 24.
- BAIQUE, D. 1985. Prevalencia de la brucelosis bovina en el distrito de San Andrés provincia de Cutervo mediante prueba de sero aglutinación en placa. Tesis Med. Veterinario. Lambayeque, Perú. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. 34 p.
- BLOOD, D., RADOSTITS, M., HENDERSON, A. 1992. Medicina veterinaria. 7 ed. México, Interamericana Mc. Graw - Hill. 1191 p.
- BRUZZONE, A. 1986. Estudio de prevalencia de brucelosis bovina en el departamento de San Martín. Departamento de sanidad animal y zoonosis, Ministerio de Agricultura, región agraria XIII. Tarapoto, Perú. 64 p.

- CARRASCO, A., UZAL, A., NIELSEN, H. 1995. Comparison of four ELISA techniques in the evaluation of the serological response of heifers vaccinated with *Brucella abortus* strain 19. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bariloche (Argentina). Arch med. Vet. XXVII. N° extraordinario. Pp. 51 – 57.
- CHEVILLE, F., OLSEN, C., JENSEN, E., STEVENS, G., PALMER, V., FLORANCE, M. 1996. Effects of at vaccination of efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 to protect cattle against brucellosis. Am. J. Vet. Res. 57 : 1153 -1156 p.
- CORBEL, J. 1991. Brucellosis., Fertilidad e infertilidad en la practica veterinaria. 4 ed. España, Interamericana Mc Graw – Hill. Pp. 201 – 236.
- CRUZ, J. 1996. Prevalencia de brucelosis bovina en la cuenca lechera del valle del Mantaro. Tesis Med. Veterinario. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 28 p.
- DINTER, Z. 1989. Diagnostic virology. a review of methods at the national veterinary institute. Uppsala sweden. Moreno López. Ed. Coordinated research programe on animal disease diagnostics. 125 p.
- FAO/OMS. 1986. Sexto informe del comité mixto de expertos en brucelosis. Serie de Informes técnicos. Ginebra. 740 : 149 p.
- GARCÍA, Z. 1990. Epidemiología veterinaria y salud animal. 1 ed. México, Limusa. 213 p.

- HERNÁNDEZ, R., FERNÁNDEZ, C., BAPTISTA, P. 1991. Metodología de la Investigación. 2 ed. Bogotá, Colombia, Interamericana Mc Graw - Hill. 505 p.
- IICA. 1989. Programa de control y erradicación de tuberculosis, brucelosis bovina y fiebre aftosa. T 55. Perú. 387 p.
- JACQUES, N. 1986. Compendio de bacteriología médica veterinaria. 2 ed. Mexico, Editorial Acribia S.A. Pp. 82 – 89.
- JAWETZ, J. 1983. Manual de microbiología medica. 9 ed. Mexico, el manual moderno S.A. 595 p.
- JUBB, V., KENNEDY, C., PALMER, N. 1993. Pathology of domestic animals. 4 ed. EE.UU., Academic press Inc. 1. Pp. 378 - 522.
- LOPEZ, P., OLIVERA, L., PAREDES, R., ROSADIO, R. 1994. Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa. Rev. Inv. Pec. IVITA, Perú. 7 (2) : 127 – 132.
- MEDWAY, W. 1990. Patología clínica veterinaria. España, hispano americano. 622 p.
- MERCK y CO. 1993. Manual Merck de veterinaria. 4 ed. Barcelona, España, océano centrum. 1795 p.
- MONTES, I., HERNÁNDEZ, P., RODRIGUEZ, M., MUÑOZ, R., AGULLA, A. 2000. Evaluation of three commercially available blood culture systems for cultivation and detection of *Brucella melitensis*. 37 th ICAAC. 11 : 403 - 409 [en línea] : (<http://cali.cetetnol.net.co/~averlam/brucilla.html>. 28oct.2000).

- MORROW, D. 1989. Current therapy in theriogenology, diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. W. B. Saunders company. Pp. 250 - 254.
- NIELSEN, H., GALL, E., KELLY, A., VIGLIOCCO, M., HENNING, D., GARCÍA, M. Aplicación de los Inmunoensayos en la serología de la brucelosis. In : Desarrollo del Inmunoensayo – Aplicaciones de Enzimoinmunoensayo para el diagnóstico de brucelosis (1996, Canadá). 1996. Institute Agricultura and Agri – food Canadá. Pp. 1-24.
- OIE. 1996. Manual of standards for diagnostic test and bacines : Bovine. Brucellosis. Pp. 242 – 255.
- PALMER, V., CHEVILLE, F., JENSEN, E. 1997. Experimental infection of pregnant cattle with the vaccine candidate *Brucella abortus* strain RB51. pathologic, bacteriologic and serologic findings. Vet. pathology. 33 (6) : 682 – 691.
- QUISPE, CH., ROSADIO, A., CERON, C., RONDON, E., RIVERA, G. 2001. Evolución de la Infección por *Brucella ovis* en carneros en época de empadre. Rev. Inv. Vet., Fac. Med. Vet. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. (Suplemento 1) : 390 – 392.
- SAMARTINO, E. 2001. Brucelosis en Latinoamérica, situación actual y perspectiva de control. Rev. Inv. Vet. Fac. Med. Vet. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. (Suplemento 1) : 1 – 5.
- SANDOVAL, N., MANCHEGO A., GAVIDIA, C., RIVERA, H., ROSADIO, R. Evaluation de una ELISA indirecta para el diagnóstico de brucelosis

- bovina. In : XIII congreso nacional de ciencias veterinarias. Perú.
1996. 53 p.
- SCHURIG, G., VOYLE, S y SRIRANGANATHAN, N. 1995. Vacuna *Brucella abortus* cepa RB51. Arch Med. Vet.. XXVII. No. Extraordinario. Pp. 19 – 21.
- THRUSFIELD, M. 1990. Epidemiología veterinaria. Trad. Por Juan Castillo. Zaragoza, España, Acribia S.A. 339 p.
- TIZARD, I. 1989. Inmunología veterinaria. 3 ed. Mexico, Interamericana S.A. Pp. 133 – 161.
- TIZARD, I. 1995. Inmunología veterinaria. 4 ed. México, Interamericana S.A. Pp. 245 – 247.
- UZAL, A., ÁVALOS, P., PADILLA, F., ROJAS, X., DAJER, A., SILVA, M., NIELSEN K., WRIGHT, P. 1998. Evaluation of an Indirect ELISA Kit the diagnosis of bovino brucellosis in Latin America. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bariloche (Argentina). Arch. Med. Vet. XXVII. Número extraordinario. Pp. 59 – 63.
- ZARCO, L. 1988. Abortos., reproducción de animales domésticos. 1 ed. México, Limusa S.A. Pp. 211 – 253.
- ZAMBRANO, A., VILLAVA, F., SCHURIG, G., CHERWONOGRODZKY, J. 1995 Preliminary results for the vaccination of pregnant cattle with *Brucella abortus* strain 19 or *Brucella abortus* RB51. Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Guayaquil (Ecuador). (Arch. Med. Vet. XXVII, N° Extraordinario. Pp. 119 – 123.

- ZAPATA, F. 1998. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en el centro poblado menor de Obenteni – gran pajonal mediante la prueba de ELISA. Tesis Med. Veterinario. Lima, Perú. Universidad Nacional mayor de San Marcos. 38 p.
- ZUIKO, A. 1971. Difusión de la brucelosis bovina en la zona de Tingo María y alrededores. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 34 p.

X. ANEXO

Cuadro 10 . Total de animales y número de muestras por razas en la provincia de Leoncio Prado

Distritos	Población en Riesgo	Tamaño Muestral	%	Razas					
				Holstein	%	B. Swiss	%	Cruzados	%
J.C. castillo	446	91	20.40	--	--	39	42.86	52	57.14
Rupa Rupa	116	23	19.83	7	30.43	10	43.84	6	26.09
P.F. Luyando	255	51	20.00	7	13.73	29	56.86	15	29.41
M.D. Beraúm	392	79	20.15	34	43.04	24	30.38	21	26.58
D.A. Robles	85	17	20.00	--	--	--	--	17	100.00
H. Valdizan	70	14	20.00	--	--	--	--	14	100.00
Total	1364	275	20.16	48	17.45	102	37.09	125	45.45

Cuadro 11 . Total de animales y número de muestras por número de partos en la provincia de Leoncio Prado

Distritos	Muestras Recolectadas	N° de Partos							
		1° - 2°	%	3° - 4°	%	5° - 6°	%	7° - 8°	%
J.C. castillo	91	42	46.15	34	37.36	7	7.69	8	8.79
Rupa Rupa	23	13	56.52	6	26.09	4	17.39	--	--
P.F. Luyando	51	27	52.94	13	25.49	7	13.73	4	7.84
M.D. Beraúm	79	40	50.63	24	30.38	11	13.92	4	5.06
D.A. Robles	17	6	35.30	6	35.30	3	17.65	2	11.76
H. Valdizan	14	8	57.14	5	35.71	--	--	1	7.14
Total	275	136	49.45	88	32.00	32	11.64	19	6.91

Cuadro 12 . Porcentaje de animales reaccionantes a la prueba de aglutinación en placa por razas en la provincia de Leoncio Prado.

Distritos	Holstein						Brown Swiss						Cruzadas								
	Nº	Neg	%	Sosp	%	Posit	%	Nº	Neg	%	Sosp	%	Posit	%	Nº	Neg	%	Sosp	%	Posit	%
J.C. castillo	-	-	-	-	-	-	-	39	36	92.31	2	5.13	1	2.56	52	51	98.08	1	1.92	-	-
Rupa Rupa	7	7	100.00	-	-	-	-	10	9	90.00	-	-	1	10.00	6	6	100.00	-	-	-	-
P.F. Luyando	7	7	100.00	-	-	-	-	29	28	96.55	1	3.45	-	-	15	15	100.00	-	-	-	-
M.D. Beraúm	34	33	91.06	1	2.94	-	-	24	23	95.83	-	-	1	4.17	20	20	25.24	-	-	1	4.76
D.A. Robles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	17	100.00	-	-	-	-
H. Valdizan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	13	92.86	1	7.14	-	-
Total	48	47	97.92	1	2.08	-	-	102	96	94.12	3	2.94	3	2.94	125	122	97.60	2	1.60	1	0.80

Cuadro 13 . Porcentaje de animales reaccionantes a la prueba de aglutinación en placa por número de partos en la provincia de Leoncio Prado.

Distritos	1° - 2°						3° - 4						5° - 6°						7° - 8°									
	N°	Neg	%	Sosp	%	Posit	%	N°	Neg	%	Sosp	%	Posit	%	N°	Neg	%	Sosp	%	Posit	%	N°	Neg	%	Sosp	%	Posit	%
J.C. castillo	42	39	92.86	2	4.76	1	2.38	34	33	97.06	1	2.94	-	-	7	7	100.00	-	-	-	-	8	8	100.00	-	-	-	-
Rupa Rupa	13	13	100.00	-	-	-	-	6	5	83.33	-	-	1	16.87	4	4	100.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P.F. Luyando	27	26	96.30	1	3.70	-	-	13	13	100.00	-	-	-	-	7	7	100.00	-	-	-	-	4	4	100.00	-	-	-	-
M.D. Beraúm	40	39	97.50	-	-	1	2.50	24	23	95.83	1	4.17	-	-	11	11	100.00	-	-	-	-	4	3	75.00	-	-	1	25.00
D.A. Robles	6	6	100.00	-	-	-	-	6	6	100.00	-	-	-	-	3	3	100.00	-	-	-	-	2	2	100.00	-	-	-	-
H. Valdizan	8	8	100.00	-	-	-	-	5	5	100.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	100.00	-	-
Total	136	131	96.32	3	2.21	2	1.47	88	85	96.59	2	2.27	1	1.14	32	32	100.00	-	-	-	-	19	17	89.47	1	5.26	1	5.26

Cuadro 14 . ANVA Distritos

FV	GL	SC	CM	Fcal
Distrito	5	0.01095401	0.002190802	0.19 NS
Error	269	3.05551017	0.011358773	
Total	274	3.06646419		

Cuadro 15 . ANVA Número de partos

FV	GL	SC	CM	Fcal
Parto	3	0.04412967	0.01470989	1.32 NS
Error	271	3.02233452	0.01115253	
Total	274	3.06646419		

Cuadro 16 . ANVA Razas

FV	GL	SC	CM	Fcal
Raza	2	0.03242286	0.01621143	1.45 NS
Error	272	3.03404133	0.01115456	
Total	274	3.06646419		

