



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
VETERINARIA

Trabajo de Graduación

Prevalencia de Brucelosis (*Brucella abortus*) en búfalos (*Bubalus bubalis*) en la empresa San José S.A en el municipio de El Rama, Región Autónoma del Caribe Sur, 2021

Autor:

Br. Carlos Daniel Sequeira Espinoza

Asesores:

Deleana del Carmen Vanegas. M.Sc.

Víctor Álvarez Téllez. M.Sc.

Managua, Nicaragua

Octubre 2021



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
VETERINARIA

Trabajo de Graduación

Prevalencia de Brucelosis (*Brucella abortus*) en búfalos (*Bubalus bubalis*) en la empresa San José S.A en el municipio de El Rama, Región Autónoma del Caribe Sur, 2021

Autor:

Br. Carlos Daniel Sequeira Espinoza

Asesores:

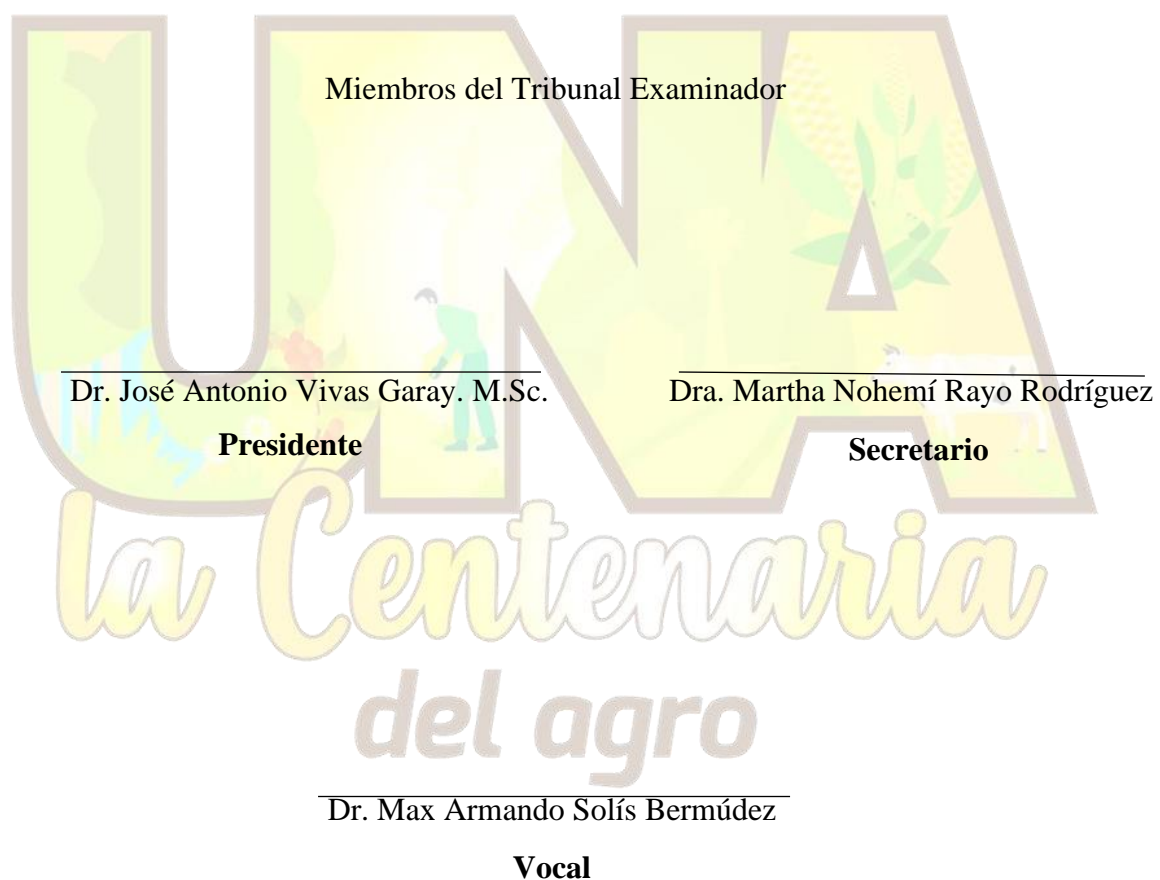
Deleana del Carmen Vanegas. M.Sc.

Víctor Álvarez Téllez. M.Sc.

Managua, Nicaragua

Octubre 2021

El presente trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura en la Facultad de ciencia animal de la Universidad Nacional Agraria como requisito parcial para optar al título profesional de Médico Veterinario



Lugar y fecha: Centro de Capacitación CECAP 26/10/2021

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FÍGURAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Búfalos de agua	4
3.1.1 Clasificación taxonómica	4
3.1.2 Origen y distribución	5
3.1.3 Tipos y Razas	5
3.2 Situación mundial de la Brucelosis	5
3.2.1 Brucelosis en búfalos	9
3.2.2 Viabilidad, propagación y transmisión	10
3.2.3 Signos clínicos	11
3.2.4 Ciclo de la <i>Brucella abortus</i>	12
3.2.5 Epidemiología a nivel mundial	13
3.2.6 Técnicas de diagnóstico	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.2 Macro localización	15
4.3 Micro localización	16
4.3.1 Situación ambiental de la zona:	16
4.4 Diseño metodológico	17
4.5 Variables evaluadas	17
4.6 Identificación	17

4.7 Prevalencia	18
4.8 Recolección de datos	18
4.9 Análisis de datos	18
4.10 Fase de campo	18
4.10.1 Procedimiento de toma de muestra según (IPSA, 2021):	19
4.11 Fase de laboratorio	20
4.11.1 Procedimiento de Ejecución de la Prueba Diagnóstica, de acuerdo al (IPSA,2021)	21
4.11.2 Interpretación de la Prueba Diagnóstica	23
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	24
5.1 Identificación de animales reactivos a <i>Brusella abortus</i> mediante la utilización de la prueba de Rosa bengala	24
5.2 Seroprevalencia de brucelosis en búfalos (<i>Bubalus bubalis</i>) en el municipio de El Rama (RACCS)	26
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES	32
VIII. LITERATURA CITADA	33
IX. ANEXOS	37

DEDICATORIA

Dedico este trabajo investigativo primeramente a Dios por brindarme salud, fortaleza, sabiduría e inteligencia en todo este trayecto de mi carrera, logrando así superar cada obstáculo que se me presentó durante todo este tiempo y que gracias a esto pude concluir una de muchas metas planteadas en mi vida, la cual es graduarme como Médico Veterinario.

Al amor de mi vida, mi madre **Juana Espinoza Zamora**, todo este logro y los que he obtenido es gracias a tu apoyo incondicional, eres la mujer que desde muy pequeño me inculcó los principios y valores que una persona de bien debe tener, y que la disciplina y el trabajar arduamente es el camino al éxito. Asimismo, dedico este trabajo a mi padre **Isidro Sequeira Taleno**, que es y será un pilar importante en mi vida, por su gran apoyo y la confianza que puso en mí y en mi capacidad de poder lograr grandes cosas, sin lugar a duda esto no fuese sido posible sin ti.

A mi hermana **Mayra Espinoza Suárez** y a mis sobrinitos **Cristhél Espinoza, Liam Reyes y Athan Castillo**, que han sido y serán fundamental en mi vida y la razón por el cual día a día me seguí y me seguiré esforzando en cumplir mis metas.

A mi querida prima **Dina Tenorio** por siempre brindarme su apoyo, durante todo este proceso.

A la **Universidad Nacional Agraria** principalmente a la **Facultad de Ciencia Animal (FACA)** por darme la oportunidad de formarme como profesional, con ayuda de los docentes de la misma.

Br. Carlos Daniel Sequeira Espinoza

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien, gracias a todas sus bendiciones, logré cumplir una de mis metas, la cual es graduarme como médico veterinario; agradeciendo enormemente a mis padres **Juana Espinoza Zamora e Isidro Sequeira Taleno** y mis hermanos **Mayra, David, Gissel e Isaac**, que siempre me brindaron su apoyo para culminar esta carrera y por ser ejemplo de honradez y perseverancia.

A mis abuelos y demás familiares por todas sus oraciones y por motivarme a continuar con mis estudios profesionales, así mismo a **Blanca Hernández** por todo su apoyo incondicional que me brindó desde muy pequeño.

A mis amigos **Vilma Martínez, Luis Soza, Lisseth Álvarez**, por ser esas personas que siempre estuvieron para mí, sin importar las circunstancias en la cual me encontraba y que por muchos motivos más se convirtieron en familia.

Al personal del Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos (**LCDVMA**) por siempre brindarme su ayuda en todo momento, en especial al **Lic. Juan Muñoz** por brindarme la oportunidad de realizar mi Servicio Profesional, desarrollándome tanto profesional como personalmente. Sin lugar a duda dejo grandes amistades en dicha empresa.

A la **Dra. Deleana Vanegas y al Dr. Víctor Álvarez**, quienes fueron mis asesores, por quien siento un gran respeto y admiración, de igual manera, por todo su apoyo y por tenerme paciencia en todo momento y por brindarme su tiempo y sus conocimientos que sin duda fueron imprescindibles en el desarrollo de esta tesis.

Br. Carlos Daniel Sequeira Espinoza

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien, gracias a todas sus bendiciones, logré cumplir una de mis metas, la cual es graduarme como médico veterinario; agradeciendo enormemente a mis padres **Juana Espinoza Zamora e Isidro Sequeira Taleno** y mis hermanos **Mayra, David, Gissel e Isaac**, que siempre me brindaron su apoyo para culminar esta carrera y por ser ejemplo de honradez y perseverancia.

A mis abuelos y demás familiares por todas sus oraciones y por motivarme a continuar con mis estudios profesionales, así mismo a **Blanca Hernández** por todo su apoyo incondicional que me brindó desde muy pequeño.

A mis amigos **Vilma Martínez, Luis Soza, Lisseth Álvarez**, por ser esas personas que siempre estuvieron para mí, sin importar las circunstancias en la cual me encontraba y que por muchos motivos más se convirtieron en familia.

Al personal del Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos (**LCDVMA**) por siempre brindarme su ayuda en todo momento, en especial al **Lic. Juan Muñoz** por brindarme la oportunidad de realizar mi Servicio Profesional, desarrollándome tanto profesional como personalmente. Sin lugar a duda dejo grandes amistades en dicha empresa.

A la **Dra. Deleana Vanegas** y al **Dr. Víctor Álvarez**, quienes fueron mis asesores, por quien siento un gran respeto y admiración, de igual manera, por todo su apoyo y por tenerme paciencia en todo momento y por brindarme su tiempo y sus conocimientos que sin duda fueron imprescindibles en el desarrollo de esta tesis.

Br. Carlos Daniel Sequeira Espinoza

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Clasificación taxonómica de los búfalos	4
2. Tiempo de supervivencia de <i>Brucella</i> en diferentes fómites	29

ÍNDICE DE FIGURAS

FÍGURA	PÁGINA
1. Ciclo de vida de <i>Brucella abortus</i>	12
2. Ciudad El Rama	16
3. Empresa aceitera San José S.A	16
4. Ausencia de aglutinación de un suero no reactor con antígeno de RB	23
5. Aglutinación de un suero reactor con antígeno de RB	23
6. Tamaño de la población de muestra en las cinco zonas donde se encuentran los Búfalos	24
7. Muestras sin presencia de aglutinación, no rectoras a <i>Brucella abortus</i>	25
8. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> en búfalos	26

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1. Formato de recepción de muestra	37
2. Formato de remisión de muestra	37
3. Protocolo de trabajo de Rosa de Bengala	38
4. Materiales a utilizar	38
5. Extracción de sangre (V.Y)	38
6. Punción en la vena yugular	39
7. Búfalos de agua	39
8. Recepción de muestra (LCDVMA)	39
9. Protocolo de Rosa de bengala	39
10. Removiendo el coágulo de las paredes del tubo	40
11. Centrifugado de las muestras	40
12. Depósito del suero	40
13. Depósito de la R.B	40
14. Mezcla del antígeno y el suero	41
15. Girando lámina por 4 minutos	41
16. Lectura sobre la caja de Wisconsing	41
17. Ausencia de aglutinación en las muestras	41
18. Cuadro de Excel sobre los datos de los búfalos muestreados	42
19. Cantidad de animales muestreados por cada zona	42
20. Manejo Zoosanitario y Zoohigiénicos de los búfalos	43

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la prevalencia de la Brucelosis Bovina (*Brucella abortus*) en búfalos (*Bubalus bubalis*) de la empresa aceitera “San José S.A” en el municipio de El Rama, mediante la técnica de Rosa de bengala realizada en el Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos (LCDVMA) en el mes de julio del año 2021, con el propósito de identificar los animales reactivos a *Brucella abortus* en los búfalos de este municipio. Se realizó un estudio epidemiológico de manera analítica de tipo transversal en cinco zonas donde se encuentran los búfalos existentes en la empresa San José S.A. para englobar a todos los animales mayores a dos años, obteniendo así por los cinco lotes un total de 174 animales mayores a dos años. La selección del tamaño de muestra se realizó con criterios de discriminación como: edad, mayores a dos años y en estado reproductivo, a partir de esta población se calculó el tamaño de muestra y se utilizó un método de muestreo probabilístico que se basa en el principio de equiprobabilidad, considerando los siguientes parámetros: Nivel de confianza es de un 95% que equivale a $Z = 1.96$ (valor de la prueba), $P = 0.5$ (proporción muestral) y $\text{error} = 5\%$ (formula: $n = (Z^2 \times P(1-P)) / e^2$). El total fue de 25 animales seleccionados en el muestreo y 10 animales extras como motivos de veracidad ante los resultados, para un total de 35 animales bufalinos. Las variables evaluadas fueron: A. Reactor: Presentó aglutinación débilmente perceptible con grumos muy finos, hasta aquellas de gruesos grumos, claras bien definidas. B. No reactor: No hubo aglutinación y se presentó un color rosa uniforme y traslúcido al paso de la luz. Se obtuvieron los resultados mediante la técnica de Rosa de bengala, saliendo todas las muestras no reactivas a brucelosis bovinas y descartando dicha enfermedad en el hato bufalino de la empresa; teniendo en cuenta que para ser una finca libre de esta enfermedad se deben de realizar dos muestreos al año y que estas den no reactivas a la enfermedad.

Palabras claves: Investigación, Bufalinos, Rosa de bengala, Zoonosis, Salud colectiva

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the prevalence of Bovine Brucellosis (*Brucella abortus*) in buffaloes (*Bubalus bubalis*) of the oil the company “San José SA” in the municipality of El Rama, using the Rose Bengal technique performed in the Laboratory Central of Veterinary Diagnosis and Food Microbiology (LCDVMA) in July 2021, with the purpose of identifying the animals reactors to *Brucella abortus* in the buffaloes of this municipality. An analytical cross-sectional epidemiological study was carried out in five areas where the buffaloes existing in the company San José S.A. are located. to encompass all animals older than two years, thus obtaining a total of 174 animals older than two years for the five batches. The selection of the sample size was carried out with discrimination criteria such as: age, older than two years and in reproductive state, from this population the sample size was calculated and a probabilistic sampling method was used that is based on the principle of equiprobability, considering the following parameters: Confidence level is 95% which is equivalent to $Z = 1.96$ (test value), $P = 0.5$ (sample proportion) and error = 5% (formula: $n = (Z^2 \times P (1-P)) / e^2$). The total was 25 animals selected in the sampling and 10 extra animals as reasons for the veracity of the results, for a total of 35 buffalo animals. That were sampled. The variables evaluated were: A. Reactor: It presented weakly perceptible agglutination with very fine clumps, even those of thick clumps, well defined clear. B. Non-reactor: There was no agglutination and a uniform and translucent pink color appeared in the passage of light. The results were obtained by means of the Rose Bengal technique, leaving all the non-reactive samples to bovine brucellosis and discarding said disease in the buffalo herd of the company; taking into account that in order to be a farm free of this disease, two samplings a year must be carried out and that these are non-reactive to the disease.

Keywords: Research, Bufalinos, Rose bengal, Zoonosis, Collective healt

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería ha sido un pilar importante en el crecimiento económico de Nicaragua debido al buen manejo que se le ha dado a la producción bovina y que se ha reconocido a nivel internacional por medio de las exportaciones a diferentes países del mundo, a diferencia de la producción y reproducción de búfalos (*Bubalus bubalis*) que ha ido tomando territorio en el campo agropecuario por su rusticidad y como animal de tiro.

Actualmente en Nicaragua no se cuenta con información sobre datos de prevalencia de brucelosis en búfalos debido a la poca explotación, aunque hoy en día esta especie está teniendo mayor demanda y mayor importancia sanitaria en la población nicaragüense (consumidor, productor, trabajador, etc.) ya que es un riesgo para la salud humana y animal.

El sector agropecuario durante el primer trimestre del 2020 ha presentado un aumento al Producto Interno Bruto (PIB) en el territorio nicaragüense, quien ha ostentado datos crecientes del 0.9 por ciento (disminución de -0.1% en promedio anual), como resultado de aumentos en las exportaciones de ganado en pie y producción de leche, principalmente. (BCN,2021, p.4)

Este país por ser un sector pecuario demandado por la ganadería se ve en la obligación de llevar más de cerca el proceso epidemiológico de esta enfermedad en los búfalos como en todos los rumiantes, ya que siendo esta especie un hospedador de la *Brucella abortus* puede repercutir en la sanidad del ganado y por supuesto en la salud humana, provocando así pérdidas económicas a nivel nacional. Se debe de tener en cuenta que la falta de información sanitaria brindada a los productores y empresas que trabajan con búfalos (*Bubalus bubalis*) puede traer una gran problemática al país por medio del aumento en el número de casos y el riesgo a la salud humana en dicha región.

Existen diferentes enfermedades que afectan a búfalos (*Bubalus bubalis*) y que son del ámbito zoonótico, siendo un riesgo para la salud pública, tal es el caso de la brucelosis (*Brucella abortus*) que puede ser transmitida por alimentos lácteo sin pasteurizar o por el contacto directo con animales infestados. Se presentan varias patologías con fines zoonóticos, tal es el caso de “Brucelosis es la denominación genérica de las infecciones, animales o humanas, causadas por cualquier especie del género *Brucella*, principalmente *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*” (OIEa, 2018, p.1).

Según (Institute for international cooperation in animal biologics, 2009) La brucelosis está afectando a especies marinas; se han reportado infecciones por *Brucella* en focas, leones marinos, delfines, ballenas y en una nutria. Este microorganismo parece tener una amplia distribución entre estos mamíferos marinos, se teme que esta zoonosis pueda afectar la reproducción o ecolocación de animales que estén en peligro de extinción. Asimismo, (Barberán, 2019) por medio de su estudio en los casos positivos a *Brucella spp.* en cetáceos varados en la Isla Canarias, reportó 7 casos de cetáceos que por medio de la prueba de PCR resultaron positivos a *Brucella spp.*

Esta enfermedad, según la (OIE, 2021):

“Figura en el *Código Sanitario para los Animales Terrestres* de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y debe ser notificada de manera obligatoria a la OIE (*Código Sanitario para los Animales Terrestres*)”.

En la actualidad, One health es de interés estratégico mundialmente, enfocándose en lo multidisciplinario, siendo trabajada por OIE, OMS y FAO que tienen un enfoque en la parte de la salud humana y la sanidad animal, para trabajar esta y otras enfermedades emergentes, reemergentes y transfronterizas, que representan riesgos a nivel mundial a la salud pública. (OIE, 2013)

Este estudio que se realizó en la empresa “San José S.A” en la ciudad de El Rama (Región Autónoma Costa Caribe Sur) visiona mejorar el manejo sanitario de los búfalos en la región fundamentado en conocimientos científicos y técnicos, apoyándose del Programa Nacional de Erradicación de Brucelosis Bovina, establecido por parte del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA). Esta investigación servirá como referencia a futuros trabajos en el área de sanidad animal, epidemiología y salud pública; y es necesario que trabajos de tal importancia se continúen realizando en colaboración con las partes interesadas a nivel nacional.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar la prevalencia de Brucelosis (*Brucella abortus*) en búfalos (*Bubalus bubalis*) de la empresa aceitera San José S.A en el municipio de El Rama (RACCS), mediante la utilización de prueba de inmunidad humoral durante el periodo del mes de junio 2021

2.2 Objetivos específicos

Identificar los animales reactivos a *Brucella abortus* mediante la utilización de la prueba de Rosa bengala

Determinar la seroprevalencia de brucelosis en búfalos (*Bubalus bubalis*) de la empresa aceitera San José S.A en el municipio de El Rama (RACCS)

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Búfalos de agua

Los Búfalos de Agua o de Río (*Bubalus bubalis*) igual que los vacunos (*Bos taurus* o *Bos indicus*), son grandes rumiantes, pero de diferente género, así como también diferentes números de cromosomas; por lo tanto, no se pueden cruzar.

3.1.1 Clasificación taxonómica

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los búfalos

Reino	Animal
Clase	Mamíferos
Sub-clase	Ungulados
Orden	Artiodáctilos
Sub-orden	Rumiantes
Infra-orden	Pécora
Súper-familia	Bóvidos
Familia	Bovidae
Sub-familia	Bovinae
	Genero Bos
	Especie B. Taurus (2n=60) *
	B. indicus (2n=60) *
	Género Bubalus
	Especie B. bubalis (2=52) *
	B. carabao (2=52) *

Fuente: Huerta (2018)

3.1.2 Origen y distribución

El origen del búfalo se dio en el continente de Asia, por tal razón es muy conocido con el nombre popular de búfalo asiático; este animal fue trasladado de este continente hasta el continente de África, luego lo introdujeron a Europa, seguido por Oceanía y posterior fue incorporado específicamente en el continente americano.

En el caso de los distintos países sudamericanos, el origen se da debido a las importaciones realizadas por parte de países, tales como: Australia, Egipto, India, Rumania, Italia y también del sudeste asiático. Según algunas encuestas se presume que en el continente Latinoamericano se encuentran aproximadamente unos 3,800,000 búfalos, de los cuales países como Brasil que cuenta con una gran población de búfalos, siendo esta con una cifra de 3,500,000 cabezas, seguido de Venezuela con aproximadamente 150,000, Argentina con 50,000 y por último en Colombia con una cantidad de 70,000 animales bufalinos. (Díaz ,2018)

3.1.3 Tipos y Razas

Se reportan 19 razas de la especie *Bubalus bubalis sp.* en el mundo, incluyendo como raza al búfalo de pantano (Carabao) siendo una subespecie diferente, empleada principalmente para trabajo; las 18 razas restantes se utilizan para doble propósito. El búfalo de río constituye aproximadamente el 70 por ciento de la población mundial de búfalos; dentro de las razas más importantes se encuentran: Mediterránea (de Río), Murrah (de Río), Nili Rabi (de Río), Jafarabadió Jafarabadi (de Río) y Carabao (de Pantano). (Huerta, 2018)

Dentro del país nicaragüense y en el municipio de El Rama se encuentran únicamente búfalos de agua, debido a las condiciones ambientales que requiere esta especie y la función que ejercen estos, dentro de las razas de (búfalos de río) presente en la empresa aceitera “San José S.A” son la raza Murrah y la Nili Rabi.

3.2 Situación mundial de la Brucelosis

La brucelosis tiene una distribución geográfica limitada, siendo un problema importante en el Mediterráneo, el oeste de Asia y algunas zonas de África y Latinoamérica, especialmente en países con bajos recursos económicos. (Tomassi y Szwako, 2020)

(Tomassi y Szwako, 2020) afirma que, en el centro y norte de Europa y en Australia la infección por *B. abortus* ha sido prácticamente erradicada, sin embargo, en Norteamérica esta enfermedad se encuentra prevalente en las zonas agrícolas del norte y centro, mientras que en Canadá y Estados Unidos ha disminuido considerablemente en los últimos años. *B. abortus* predomina en todos los países de América Central, pero desde hace algunas décadas se han ido implementando programas para erradicación, siendo la prevalencia de un 4 a un 8%.

No obstante, en Sudamérica se encuentra en varios países, donde en muchos casos es endémica con problema sanitario importante, debido a la situación patológica. En Chile, la Décima Región de Los Lagos es la que comprende la mayor área productora de leche y, además, tiene la mayor concentración de ganado infectado. (Tomassi y Szwako, 2020)

A nivel mundial los mayores grados de incidencia de brucelosis bovina se sitúan en Oriente Medio, la región Mediterránea, el África subsahariana, China, India, Perú y México. Sin embargo, el crecimiento más agudo en número de casos se está presentando en países de Asia Central y Sudoriental; Se estima que varios países de Europa Occidental y del Norte, así como también Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda, están libres del agente *Brucella abortus*. (OIE, 2021)

En el año 1995 la DGPSA a través de la Dirección de Salud Animal, inició un programa de control de brucelosis y tuberculosis con el fin de incorporar fincas libres en ambas enfermedades. Por tal motivo se estructuró el marco legal de ese Programa creándose el Acuerdo Ministerial No. 06-97 y 07-97 el cual establece el Reglamento para el Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis respectivamente. (IPSA, 2013)

En el año 1998 la Dirección de Salud Animal autoriza al laboratorio del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicado en el municipio de Nueva Guinea, para realizar pruebas diagnósticas de brucelosis y tuberculosis a las fincas integradas en la Cooperativa COOPROLECHE en ese municipio. Posteriormente estas explotaciones fueron certificadas como fincas libres, después de haber cumplido con el ciclo de pruebas establecidas por el programa del Ministerio Agropecuario y Forestal (MAG-FOR). (IPSA, 2013)

En 1999 se realizó el primer estudio de prevalencia de brucelosis bovina en Nicaragua indicando una prevalencia del 0.21%. En el 2011 se realizó el segundo estudio de prevalencia de brucelosis bovina en Nicaragua indicando una prevalencia por animal de 0.18%. (IPSA, 2016).

En los años 2000 – 2001, el Proyecto de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección de Salud Animal (PROVESA) realizó un diseño estadístico para conocer la prevalencia de Brucelosis bovina nacional. La muestra se realizó en 1,631 animales, distribuidos en 1,135 fincas. Se obtuvo un resultado del muestreo de tipo transversal con una prevalencia de brucelosis del 0.12%. (IPSA, 2013)

En el año 2005 se declaró libre oficialmente de brucelosis y tuberculosis bovina a la Isla de Ometepe del departamento de Rivas, según mandata el acuerdo ministerial No. 005-2005, “Declaratoria de los municipios de Altagracia y Moyogalpa de la Isla de Ometepe como territorios libres de Brucelosis bovina y Tuberculosis bovina”. (IPSA, 2013)

En el 2006 se emitió el Acuerdo ministerial 12-2006 “Medidas sanitarias para el control y erradicación de las enfermedades endémicas”. En el 2009 se derogó dicho acuerdo y se emitió el acuerdo ministerial 006-2009 “Medidas sanitarias para el control y erradicación de las enfermedades animales en Nicaragua” (Gaceta, diario oficial No.118;25/06/2009). (IPSA, 2013)

Del 2004 al 2009 se implementó un área piloto para la certificación de fincas libres de brucelosis bovina en los municipios del Almendro, El Coral y Nueva Guinea. Durante este período, mediante las técnicas Rosa de Bengala y de Rivanol como prueba diagnóstica confirmatoria, se analizaron 123,964 muestras, de las cuales 747 bovinos y 14 equinos resultaron reactores a la prueba (0.61%). Según lo establece el Acuerdo Ministerial No.008 “Medidas sanitarias para el control y erradicación de la brucelosis bovina en Nicaragua” todos los animales reactores a brucelosis bovina fueron enviados a sacrificio. (IPSA, 2013)

En su intervención en el “International Business Panel, el director general afirma que la Organización mundial del comercio (OMC) puede desempeñar un papel fundamental para ayudar a los países a alcanzar los objetivos relacionados a la seguridad alimentaria, de conformidad con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas, y a la inocuidad de los alimentos. (OMC, 2018)

Entre las medidas más frecuentes que observamos en lo que se refiere al comercio de productos agropecuarios y alimenticios se encuentran las medidas sanitarias y fitosanitarias, los reglamentos técnicos y las normas, así como los procedimientos aduaneros complejos. El Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la OMC consigue un cuidadoso equilibrio entre el derecho de los países a imponer medidas encaminadas a promover la vida y la salud humanas de las personas, los animales y las plantas y la necesidad de evitar los obstáculos innecesarios al comercio. (OMC, 2018)

“Existen iniciativas de colaboración de la OMC con otras organizaciones, para crear capacidad sanitaria y fitosanitaria en beneficio de los países en desarrollo como es el cumplimiento de las normas para respaldar las exportaciones de productos agropecuarios de Nicaragua a través de la formación técnica de los pequeños agricultores, a menudo mujeres”. (OMC, 2018)

En Nicaragua no hay antecedentes sobre la incidencia de brucelosis en búfalos, ni información sobre la cantidad de animales que se encuentran en el territorio, debido a que la toman en cuenta con los demás bovinos (Vacas), por tal razón no hay datos meramente de búfalos. Según Conagan el hato ganadero de Nicaragua es de 6,2 millones de animales bovinos, distribuidas en 146.000 fincas, de las cuales la mayoría está certificada con la trazabilidad bovina. (EFE, 2021)

La especie bufalina ha sido utilizada para fines de trabajo, reproducción y producción, esto con lleva a que exista un alto riesgo para la salud pública de los nicaragüenses; por esto se considera necesaria la realización de este trabajo investigativo con el fin de dar conocimiento breve sobre la situación sanitaria en el hato bufalino de la empresa aceitera “San Jose S.A” de la ciudad de El Rama (RACCS).

3.2.1 Brucelosis en búfalos

(Zimmer P.A, 2014) afirma que: En muchos países se sabe que los búfalos están afectados con la *Brucella abortus*, causante de la brucelosis y se cree que la congregación en revolcaderos, es parte de su comportamiento como animal de manada, favorece la propagación de la enfermedad y que las medidas preventivas para la erradicación o control de la enfermedad en los países de crianza bufalinas son similares a las empleadas en otros rumiantes y que en los últimos años se ha aumentado la notificación de esta enfermedad.

Esta patología tiene impacto en la fauna salvaje, afectando al cerdo salvaje, el bisonte, búfalos, el alce y la liebre europea. La presencia de un reservorio en la fauna salvaje complica la lucha por erradicar la enfermedad, la cual es una zoonosis extremadamente infecciosa para el ser humano, causante de una dolencia llamada a menudo fiebre ondulante o fiebre de Malta, pues fue descrita por primera vez en Malta en el decenio de 1850. (OIE, 2021).

Según (OIE, 2015): Las actividades humanas y las alteraciones del medio ambiente constituyen un problema para animales silvestres y de granjas; el aumento del “comercio” a escala mundial ha fabricado la mezcla de estos agentes infecciosos, la transmisión entre diferentes especies y el intercambio de material genético que podría generar nuevos agentes patógenos mortales; de igual manera el consumo de carne de animales silvestres.

La infección por *Brucella abortus* es fácilmente transmisible al ser humano, el periodo de incubación de la enfermedad normalmente oscila entre dos y cuatro semanas, pero puede durar hasta dos meses; en el que causa un proceso febril (fiebre ondulante) que puede avanzar a una forma más crónica y también producir complicaciones graves que afecten a los sistemas musculoesquelético y cardiovascular y al sistema nervioso central. Deben aplicarse medidas de precaución para prevenir la infección humana. (OIE, 2015)

La infección se contrae básicamente por vía oral, respiratoria o conjuntival, pero la ingesta de productos lácteos crudos constituye el principal riesgo para el público general en los lugares en los que la enfermedad es endémica. Existe un riesgo ocupacional en veterinarios, trabajadores de mataderos y ganaderos que manipulen animales/canales infectados y fetos abortados o placentas. La brucelosis también es una de las infecciones de laboratorio más fáciles de contraer, y todas las manipulaciones de laboratorio relacionadas con cultivos vivos o material que pueda estar infectado o contaminado deben realizarse a un nivel de bioseguridad y contención adecuada, que se determinará a partir de un análisis del riesgo biológico. (OIE, 2021).

3.2.2 Viabilidad, propagación y transmisión

Reservorio: *B. abortus*: bovinos, equinos. *B. canis*: cánidos. *B. melitensis*: caprinos, ovinos, camélidos. *B. suis*: porcinos, lepóridos. Hospedadores: Humanos y los citados en el apartado “Reservorio”. Dosis infectiva mínima (DIM): De 10 a 100 microorganismos por inhalación son suficientes para producir la enfermedad. Supervivencia ambiental. (Databio., Instituto nacional de seguridad e higiene 2013)

La *Brucella* puede sobrevivir durante más de dos meses en agua a 20°C, igualmente en el suelo y pasto fresco en un ambiente húmedo, hasta 8 meses en purines y muchos meses en sustratos secos (heno, polvo, lana, equipos y útiles de trabajo, etc.) se prolonga su supervivencia es más cuando la temperatura es baja, principalmente cuando se encuentra por debajo del punto de congelación. También puede sobrevivir durante mucho tiempo en órganos y carcasas de animales, o en sangre a 4°C. En la carne sobrevive durante periodos de tiempo muy cortos, salvo si está congelada, en cuyo caso puede sobrevivir durante años. (Databio., Instituto nacional de seguridad e higiene, 2013)

3.2.2.1 Mecanismo de propagación y transmisión

(Martínez, P. 2019) sostiene que:

La principal vía de contagio es por fluidos corporales como la leche o aguas contaminadas por heces. Existen dos vías de transmisión de la brucelosis bovina: 1) Transmisión vertical: es la que se produce cuando la bacteria se transmite a la descendencia por vía transplacentaria, o durante la lactancia. Las consecuencias del contagio son diferentes según el período de gestación en el que se produzca. Suele pasar que si se realizan pruebas diagnósticas en el primer tercio de la gestación suelen darse falsos negativos en los test de detección, pues el sistema inmune del feto identifica como propias las bacterias. 2) Transmisión horizontal: es la que se produce entre animales enfermos y animales sanos. Las vías de contagio son muchas y variadas, incluyendo el aire, secreciones corporales, restos de placenta en el medio, aguas o alimentos contaminados o por vía cutánea. (p.3)

3.2.3 Signos clínicos

Esta patología en el bovino incluye, casos de aborto, infertilidad, retención placentaria, mortalidad neonatal o debilidad de la progenie. Todo ello se traduce en pérdidas económicas considerables para los productores de ganado lechero, ovejas, cabras o cerdos. Los higromas, que suelen afectar a las articulaciones de las extremidades, son un signo frecuente en caso de brucelosis en algunos países tropicales y pueden ser el único indicador manifiesto de infección; el líquido de los higromas suele estar infectado por *Brucella abortus*. (OIE, 2021)

Los síntomas clínicos son semejantes en los búfalos (*Bubalus bubalis*) como en los demás rumiantes: Las sintomatologías producidas por esta enfermedad es el aborto espontáneo producido alrededor de la segunda mitad del periodo de gestación, también puede ser un signo el nacimiento de crías débiles que fallecen algunos días después del parto, sin embargo, la brucelosis en bovinos se considera una enfermedad asintomática en hembras no gestantes. Los demás signos de esta patología son: Abortos, retención de placenta y metritis secundaria, disminución del periodo de lactancia, abscesos testiculares en los machos, infertilidad, presencia de higromas, mastitis intersticial. (Enciso López. L. A, 2021)

La pasteurización, es un proceso importante en la prevención de enfermedades por el consumo alimentario, ya que por dicho proceso es posible la eliminación de diferentes patógenos existentes en los lácteos y sus derivados, como es en el caso de la leche cruda que puede albergar microorganismos peligrosos para la salud humana. Dentro de algunas enfermedades presentes en los alimentos lácteos se encuentran: Brucelosis, Salmonelosis, *Escherichia-coli*, etc. (EL SIGLO DE DURANGO, 2020)

3.2.6. Epidemiología a nivel mundial

(Vega. et al., 2008) dice que:

La epidemiología de la brucelosis es compleja y ha tenido variaciones con el tiempo. Se estima que anualmente existen en el mundo más de 500,000 casos nuevos, representando una de las zoonosis más frecuentes. La enfermedad es endémica en países del Mediterráneo como Portugal, España, el sur de Francia, Italia, Grecia, Turquía y África del Norte, así como en Centro y Sudamérica, algunas partes de México, Asia y el medio Oriente. A nivel mundial se calcula una incidencia en zonas endémicas que llega hasta más de 200 casos por cada 100,000 habitantes, países como Mongolia, Kirguizistán, Iraq, Arabia Saudita, Tadjikistan y Kazajstán presentan la incidencia más alta a nivel mundial, sin embargo, el país con mayor número de nuevos casos anuales es Siria con una tasa de incidencia de 1,603 casos por millón de habitantes.

(Calderón. et al., 2015):

En algunos países de latino américa como Ecuador, las pérdidas anuales por la brucelosis en el ganado se estiman en alrededor de 5,5 millones de dólares debido a abortos, reducción de la producción de leche y la mortalidad (Rodríguez et al., 2015). En la India donde la brucelosis es endémica se han establecido prevalencias entre el 6,5% al 16,4% y pérdidas de 3,4 billones de dólares por la enfermedad en diferentes especies de animales domésticos; los bovinos y los búfalos representan el 95,8% del total de las pérdidas generadas.

La prevalencia de brucelosis bovina varía considerablemente entre países, en Latinoamérica las tasas que se registran van desde 0,5 a 10% con cifras del 0,04% en Uruguay, 10,20% en el norte y el 0,06% en el sur de Brasil, 0,2% en Chile, 3,15% en Paraguay, 2,27% en Bolivia y Argentina 2,10%. En Colombia en la especie bovina según algunos estudios, la seroprevalencia oscila entre el 2,4 al 5%. (Calderón et al., 2015)

3.2.7. Técnicas de diagnóstico

Identificación del agente: Este se basa en el microorganismo de tipo *Brucella* en material abortado o en secreciones vaginales que por medio de la tinción con la técnica ácido alcohol resistente modificada, sobre todo si está respaldada por pruebas serológicas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) constituye un procedimiento de detección de ADN de *Brucella* en una muestra; se debe aislar *Brucella spp* y cultivar muestras de secreciones uterinas, fetos abortados, secreciones de las ubres o tejidos específicos, como ganglios linfáticos u órganos reproductores masculinos o femeninos. Las especies y bio-variedades deben identificarse mediante fagólisis y según criterios de cultivo, bioquímicos y serológicos. La PCR puede ser un método complementario tanto de identificación como de tipificación basado en secuencias específicas del genoma. (OIEc, 2018)

Pruebas de inmunidad humoral y celular: Las pruebas con el antígeno tamponado de *Brucella* como Rosa de bengala y la prueba de aglutinación en placa con antígeno tamponado, así como la fijación del complemento, el enzimoimmunoanálisis (ELISA) o el ensayo de polarización de la fluorescencia, son pruebas que se utilizan para analizar rebaños/manadas como animales específicos, ya sean pequeños rumiantes, camélidos o bovinos (ganado bovino o búfalos). Sin embargo, ninguna prueba serológica es adecuada por sí sola para todas las especies animales ni para todas las situaciones epidemiológicas, y algunas no son adecuadas para el diagnóstico de la brucelosis porcina; por lo tanto, la reactividad de las muestras que dan positivo en las pruebas de cribado debe comprobarse utilizando un sistema confirmativo y/o complementario establecido, con el finde tener resultados confiables. (OIE, 2018)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del área de estudio

Este trabajo investigativo se llevó a cabo en la unidad de producción bufalina de la empresa aceitera "San José S. A", ubicada en el municipio de Rama RACCS, la cual se encuentra entre las coordenadas: Latitud: 12.15, Longitud: -84.2167 Latitud: 12° 9' 0" Norte, Longitud: 84° 13' 0" Oeste. La altitud de El Rama es de 25 metros. El municipio productos de alta temperatura y precipitaciones se encuentran constantemente puesto a tormentas depresiones tropicales huracanes e inundaciones consecuentes. (El Rama, 2021)

4.2 Macro localización

El municipio de El Rama cuenta con una extensión territorial de 3,753.00 km² la cual consta con sus respectivas delimitaciones: Al Norte con el municipio de Paiwas y el Tortuguero, al Sur municipio de Nueva Guinea, al Este municipio de Bluefields y Kukra Hill, al Oeste municipio de Muelles de los bueyes, Santo Domingo. La población es de 52,482 habitantes con una densidad poblacional de 14.0 hab./km². La cabecera municipal está ubicada a 292 km de la ciudad de Managua. (El Rama, 2021)

La principal actividad económica es la agricultura y el comercio. La forma más común de utilización actual de la tierra es la conocida como agricultura migratoria, un sistema de uso temporal, en el cual la vegetación natural se limpia por medio de fuego para cultivarse durante 2 o 3 años, tras lo cual se deja en descanso por unos 5 a 6 años antes de reiniciar el ciclo. Los principales cultivos son el maíz, frijol y arroz, con poco rendimiento por hectárea. Los pastizales ocupan entre el 50 y 60% del área. (El Rama, 2021)

4.3 Micro localización

4.3.1 Situación ambiental de la zona:

La ciudad de El Rama se encuentra a 292 km de Managua, está rodeada de tres grandes ríos tales como el río Siquia, Rama y Escondido. Cuenta con un cerro en el centro de la ciudad y La climatología de este municipio es trópico húmedo.

El nombre del municipio es una reminiscencia de sus primeros pobladores, indígenas caribeños de la etnia rama, que alguna vez poblaron las riberas de los ríos Siquia, Rama y Escondido hasta el litoral, en los territorios de los actuales municipios de Bluefields y El Rama.

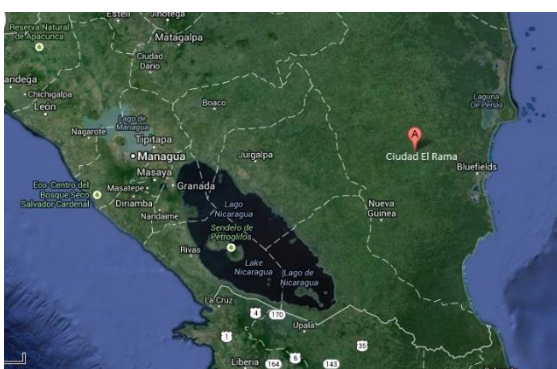


Figura 2. Ciudad El Rama
Fuente: Mapa de la ciudad El Rama -
Nicaragua - Bing images



Figura 3. Empresa aceitera San José S.A
Fuente: Google maps, 2021

El municipio se inscribió en la geografía económica nacional a fines del siglo XIX, con el inicio de la extracción de madera, hule y banano por compañías norteamericanas de enclave. Esta activación económica causó un fuerte flujo migratorio desde los departamentos de Granada, Boaco y Chontales, así como de ciudadanos de origen chino, quienes se dedicaron principalmente al comercio. También su historia está ligada a la de la expansión de la frontera agrícola, en la medida en que la construcción de la carretera Managua – El Rama facilitó las sucesivas oleadas migratorias de campesinos mestizos que poblaron Muelle de los Bueyes, Nueva Guinea y Kukra Hill. (EcuRed, 2019)

4.4 Diseño metodológico

Se realizó un estudio epidemiológico de manera analítica de tipo transversal en cinco zonas de búfalos existente en la empresa San José S.A. para englobar a todos los animales mayores a dos años, se obtuvo por las cinco zonas un total de 174 animales mayores a dos años. La selección del tamaño de muestra se realizó con criterios de discriminación como: edad, mayores a dos años y en estado reproductivo, a partir de esta población se calculó el tamaño muestra utilizando un método de muestreo probabilístico que se basa en el principio de equiprobabilidad, considerando los siguientes parámetros: Nivel de confianza es de un 95% que equivale a $Z=1.96$ (valor de la prueba), $P=0.5$ (proporción muestral) y error= 5% (formula: $n= (Z^2 \times P(1-P)) / e^2$)).

Según la fórmula establecida, el tamaño de la muestra calculada fue de 25 animales incluyendo 10 animales adicionales para ampliar el tamaño de muestra; los cuales se seleccionaron en un muestreo aleatorio al azar, siendo esta realizada en una bolsa, donde se introdujeron papeles con los números de identificación de cada uno de los búfalos, obteniendo así los 35 animales para el muestreo.

El muestreo se llevó a cabo el día dieciséis del mes de junio del presente año. La extracción de la muestra sanguínea se realizó de la vena yugular, la cual fue depositada en tubos de ensayo sin anticoagulantes, y fueron trasladada al laboratorio central de diagnóstico veterinario y microbiología de los alimentos (LCDVMA) del IPSA, realizando el estudio analítico por medio de la prueba de Rosa de bengala, determinando los reactores a dicha prueba.

A partir de los resultados de la prueba se calculó la prevalencia de la enfermedad en el hato en estudio.

4.5 Variables evaluadas

4.6 Identificación

- A. **Reactor:** Presenta aglutinación débilmente perceptible con grumos muy finos, hasta aquellas de gruesos grumos, claras bien definidas.
- B. **No reactor:** No presenta aglutinación y la preparación tiene un color rosa uniforme y translúcido al paso de la luz.

4.7 Prevalencia

$$P = \frac{\# \text{ de animales reactores positivos a Br}}{\text{Total de la población muestreada}} \times 100$$

4.8 Recolección de datos

Dentro de la recolección de muestra se llenó un formato en físico que luego fue pasado al programa de Excel, donde están todos los datos de cada animal muestreado, tales como: código del animal, número de zona, nombre, especie, raza, categoría, edad, sexo, tipo de muestra y tipo de técnica. Todo este proceso se realizó con el fin de actuar de manera directa con el animal en el caso de que este fuera reactor a dicha prueba y así evaluar la situación del mismo, como los posibles contagios entre las demás especies y a los trabajadores de la empresa.

Las muestras extraídas se transportaron en un termo con hielo a temperatura de 4°C, evitando la destrucción de los eritrocitos y la conservación de la muestra. Se recomendó llevar dichas muestras lo antes posibles al laboratorio para los respectivos análisis.

4.9 Análisis de datos

Para el análisis de los datos se utilizaron estadística descriptiva univariada, utilizando el programa de R Studio

4.10 Fase de campo

Se visitó la empresa aceitera San José S.A en el municipio de El Rama, donde se encontraban los animales a ser muestreados; teniendo en cuenta, que para la extracción de sangre y envío de la misma, se necesitó diferentes materiales, tales como: Jeringas, tubos sin anticoagulantes, guantes, vacutainer, algodón, alcohol, hielera, hielo, tabla de campo, lapicero, marcador, etc. Estos materiales deben de estar secos y esterilizados, teniendo en cuenta que los restos de humedad y partículas provocan hemólisis.

Con ayuda del formato de remisión de muestra (Anexo 2), se anotó los datos de cada búfalo muestreado, esto con el fin de evitar confusión entre las demás muestras y así no tener ningún problema al momento de entregarlas al laboratorio. Las muestras se obtuvieron por punción venosa a nivel yugular en los animales identificados, asimismo, se rotularon los tubos con claridad, escribiéndose con marcador indeleble y no con lápiz.

Inmediatamente después de haber obtenido la muestra de sangre se colocó en plano inclinado para aumentar la superficie de coagulación, de igual manera, se ubicaron los tubos bajo sombra en un lugar fijo, no sometido a temperaturas extremas ni movimientos bruscos por unos minutos, para luego ubicarlos en la hielera de forma vertical.

4.10.1 Procedimiento de toma de muestra según (IPSA, 2021):

- 1) Rotular o identificar el tubo
- 2) Sujetar la cabeza en un brete o corral con una la ayuda de un cabezal o lasos
- 3) Localizar la vena en el surco yugular, en los animales en lo que no se observa a simple vista, es fácilmente palpable
- 4) Colocarse los guantes
- 5) Realizar antisepsia con alcohol 70% o con Yodo povidona al 10%, en una zona de piel de unos 10 cm de diámetro alrededor del sitio de punción. Se inicia por el centro y se irá haciendo círculos concéntricos hacia el exterior. Dejar actuar 1-2 minutos
- 6) Desinfectar el tapón de goma del tubo con alcohol 70%
- 7) Empatar la aguja en la funda o camisa
- 8) Encajar el tubo en la funda o camisa sin perforarlo
- 9) Insertar la aguja en la vena en ángulo de 30°
- 10) Estabilizar la funda y la aguja con la mano, colocar el pulgar de la otra mano en la parte inferior del tubo y los dedos índice y medio en las aletas de la funda. Presionando con el pulgar y el dedo índice el uno contra el otro, se forzará al tapón de goma, introduciendo la aguja en el tubo. La sangre fluirá dentro del mismo

- 11) Mantener la funda estable, hasta consumir todo el vacío y retirar el tubo
- 12) Sin retirar la aguja, encajar el segundo tubo en la camisa y realizar de nuevo el paso 10
- 13) Mantener la funda estable, hasta consumir todo el vacío y retirar el tubo
- 14) Retirar la aguja y ejercer presión sobre la zona de punción con algodón por unos segundos
- 15) Invertir varias veces el tubo para evitar que se coagule
- 16) Desechar las agujas y el resto de materiales contaminados en la bolsa roja
- 17) Quitarse los guantes

Al concluir todo el procedimiento, las muestras de sangre se transportaron en una hielera al Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos (LCDVMA), con el fin de realizar el análisis para la detección de la *Brucella abortus*.

4.11 Fase de laboratorio

Rosa de bengala (prueba prescrita para el comercio internacional)

Es una prueba sencilla de aglutinación basada en una reacción antígeno – anticuerpo para el diagnóstico de brucelosis, el resultado de esta prueba se expresa de forma cualitativa, es decir, si el animal es rector o no rector a dicha patología. La prueba de Rosa de bengala es la más utilizada para la identificación de anticuerpos para la brucelosis por su gran sencillez, alta sensibilidad y especificidad, teniendo un noventa y cuatro por ciento de sensibilidad y un cien por ciento de especificidad, por ende, es una de las técnicas de seroaglutinación más utilizada para la detección de la *Brucella abortus*. (OIE, 2018)

Fundamento: La composición del reactivo de Rosa de bengala, está constituida por la cepa S99 de *Brucella abortus*, diluida en un tampón ácido de lactato (pH 3,6), más fenol y el colorante Rosa de bengala. Con ayuda de esta prueba lo que se busca son anticuerpos anti-brucella, teniendo en cuenta que si están presentes reaccionarán con el antígeno del reactivo, observando una reacción de aglutinación macroscópicamente visible. El test detecta indistintamente anticuerpos IgM o IgG. Los anticuerpos tienen la capacidad de unirse a dos antígenos y esto a su vez se unen a varios anticuerpos, formando una malla entrelazada observable directamente. (Gil, M. 2019)

Según (Gil, M. 2019) La prueba de RB puede detectar la enfermedad tanto en su etapa aguda donde prevalece los anticuerpos IgM, así como también la etapa crónica donde se encuentra presente los anticuerpos IgG; esto representa una ventaja porque aumenta la sensibilidad de la prueba, pero a la vez puede presentar una desventaja, debido a que no difiere de una etapa y la otra, esto se debe a que la reacción de ambos anticuerpos es igual. Se tiene que tener en cuenta que el test debe realizarse junto a un control negativo y un control positivo.

Equipos y materiales: Centrífuga, refrigeradora (2 a 4 °C), caja de wisconsin, placa de vidrio dividida en cuadrantes, micropipeta de rango de 5 a 50 µl, pipetas con un rango de 20 a 200 µl, mezcladores múltiples/palillos, puntas, freezer para muestras, tubos 16x100mm, reloj, vortex, recipiente, termómetro ambiental de máxima y mínima, sistema de calefacción o enfriamiento.

Reactivos: Antígeno Rosa de bengala 8% concentración celular y suero control positivo y negativo

4.11.1 Procedimiento de Ejecución de la Prueba Diagnóstica, de acuerdo al (IPSA, 2021):

Preparación de la muestra analítica: Las muestras de sangre o suero sanguíneo que se recibieron estaban claras, sin hemólisis, sin EDTA y sin contaminación para realizar el análisis. La sangre entera no soltó suficiente suero, por ende, se removió el coágulo por las paredes del tubo cuidadosamente, evitando así causar lisis en los glóbulos rojos de la muestra y seguidamente se centrifugó a 1500 rpm por 5 minutos.

Luego se transfirió el suero a un vial con su debida identificación y número de protocolo asignado en recepción, se ordenó las muestras en gradillas según el orden al número correlativo de la solicitud de envío. Las muestras a procesar y el antígeno RB necesario, estaban a temperatura ambiente, debido a que se sacaron de la refrigeradora de 45 min a 1 hora antes de iniciar el análisis y el área se mantuvo a una temperatura ambiental de 18° a 23° C y una humedad no mayor a 70%.

Procedimiento de la realización del ensayo (IPSA, 2021):

- 1) Las muestras cumplieron con los criterios de aceptación, el número de protocolo asignado por la recepción es registrado en el cuaderno de registro de análisis y emisión de resultados en el diagnóstico de brucelosis
- 2) Se centrifugó la muestra de sangre para obtener el suero
- 3) Se dejó el suero y el antígeno que alcanzaran la temperatura ambiente por lo menos 45 minutos a 1 hora antes de la realización de la prueba
- 4) Se colocó la muestra de suero en el vortex por 5 segundos para homogenizarla
- 5) Se homogenizó suavemente el antígeno antes de cada utilización
- 6) Se depositó en el centro del primer cuadrado superior izquierdo de la placa de Wisconsing 30 µl de la primera muestra; se ocupó el cuadrado de la placa de wisconsing en orden horizontal de izquierda a derecha para las muestras siguientes. Nota: No exceder de más de 24 muestras
- 7) Se colocó 30 µl del antígeno RB al lado de cada muestra de suero y se evitó la mezcla total
- 8) Con palillos de madera se mezcló bien el antígeno y el suero ocupando una superficie circular de 23 a 24 mm
- 9) Inmediatamente concluida la mezcla se marcó el reloj con un intervalo de tiempo en 4 minutos
- 10) Todas las preparaciones lograron rápidamente una mezcla homogénea
- 11) Se giró la lámina durante 4 minutos, a razón de 20 a 35 veces por minutos, en un ángulo que no significó el desplazamiento y mezcla de una muestra y la otra
- 12) Se procedió a la lectura a los 4 minutos sobre el aglutinoscopio o caja de wisconsin, encendiendo el bombillo de la misma y se observó a través de la luz
- 13) Se verificó si hubo o no aglutinación en cada una de las muestras
- 14) Se hizo la lectura y se anotaron los resultados en el protocolo y en el libro de registro de brucelosis bovina, marcando sobre cada identificación de las muestras los que resultaron reactivos bajo la técnica de rosa de bengala, estas se notifican a la DISSAN dejando el registro de la bitácora de casos reactivos; a las muestras con resultados no reactivos se dejaron en blanco.

El resultado obtenido se entregó en la hoja de la solicitud en recepción y el encargado firmó el cuaderno de resultados

15) Al finalizar el proceso se inactivó la cuadrícula de vidrio que contenía la mezcla del antígeno y muestra con cloro al 2% según instructivo de operación y limpieza de la caja de wisconsin y cuadrícula de vidrio, dejando evidencia de su uso en el dicho instructivo

16) Se lavó con jabón y abundante agua la cuadrícula y se secó con un paño

17) Una vez finalizado el ensayo las muestras de suero reactivos se identifican como tal, con su respectiva identificación, número de protocolo y se guardan a $(-20^{\circ}\text{C}\pm 2)$; por un periodo 1 año, los negativos se descartan al mes de haberse procesado; mientras los de feria y exportación se descartan a los 90 días

4.11.2 Interpretación de la Prueba Diagnóstica

Se debe de considerar la siguiente interpretación:

A. Se considera no reactor, una prueba que no presente aglutinación y preparación tenga un color rosa uniforme y translucido al paso de la luz.

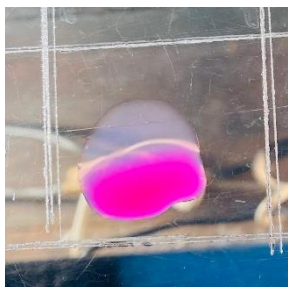


Figura 4. Ausencia de aglutinación de un suero no reactor con antígeno de RB

Fuente: Propia

B. Se considerará como reactor, desde una prueba que presente aglutinación débilmente perceptible con grumos muy finos, hasta aquellas de gruesos grumos, claras bien definidas

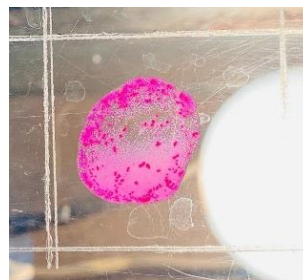


Figura 5. Aglutinación de un suero reactor con antígeno de RB

Fuente: Propia

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Identificación de animales reactivos a *Brucella abortus* mediante la utilización de la prueba de Rosa bengala

De la población estudiada de los 174 animales se examinaron un total de 35 bufalinos de agua, por medio de muestras de suero sanguíneo de las razas Murrah y Nili-Ravi, para determinar la presencia de la enfermedad en el hato, cuyo propósito productivo es únicamente de trabajo en la empresa aceitera San José S.A, que se encuentra localizada en el municipio de El Rama. Estos animales han sido adiestrados desde su llegada a la localidad por parte de un personal capacitado.

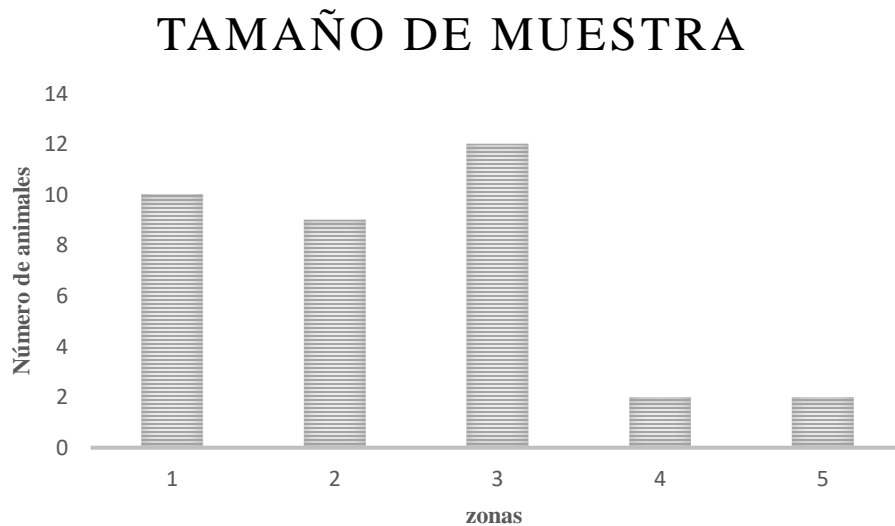


Figura 6. Tamaño de la población de muestra en las cinco zonas: 1. Areno. 2. Semana Santa. 3. Las Lapa. 4. Chalmeca. 5. Corosal Planet. donde se encuentran los Búfalos

La selección del tamaño de muestra se realizó con criterios de discriminación como: edad, mayores a dos años y en estado reproductivo, a partir de esta población se calculó el tamaño muestra utilizando un método de muestreo probabilístico que se basa en el principio de equiprobabilidad, considerando los siguientes parámetros: Nivel de confianza es de un 95% que equivale a $Z= 1.96$ (valor de la prueba), $P= 0.5$ (proporción muestral) y error= 5% (formula: $n= (Z^2 \times P(1-P)) /e^2$)).

Se seleccionaron en un muestreo aleatorio al azar, en una bolsa se introdujeron papeles con los números de identificación y se escogieron los 25 animales y 10 animales extras como motivos de veracidad y amplitud ante los resultados, para un total de 35 animales que se muestrearon de las cinco zonas en la que se encuentra dividida la empresa, estas son: 1) Areno 2) Semana Santa 3) Las Lapa 4) Chalmecca 5) Corosal Planet. Según la figura 6, el total de los búfalos que se muestrearon, quedaron distribuido de la siguiente manera: 1(10), 2(9), 3(12), 4(2), 5(2)

Mediante la realización de la técnica Rosa de Bengala (Aba Test Tarjeta al 8%), antígeno para el diagnóstico de brucelosis animal (*Brucella abortus*) Cepa 1119-3. Se logró determinar la ausencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en búfalos de agua de las zonas antes mencionadas. De acuerdo a las especificaciones de la prueba, se realizó la lectura con la Caja de Wisconsing Artesanal; llevándose a cabo en el Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los alimentos (LCDVMA).

De un total de 35 muestras, recolectadas y analizadas, ninguna resultó rectoras a *Brucella abortus*, mediante la técnica de Rosa de bengala.

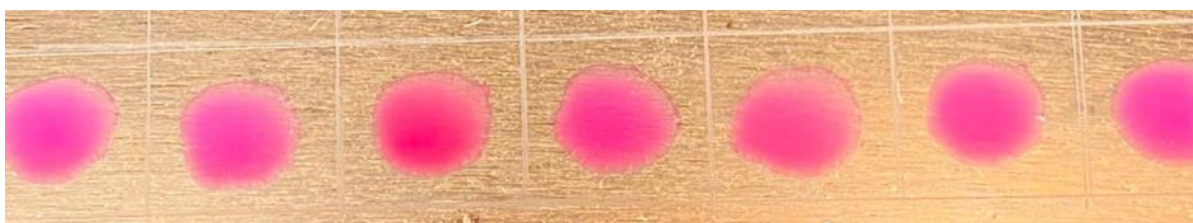


Figura 7. Muestras sin presencia de aglutinación, no rectoras a *Brucella abortus*

Fuente: Propia

5.2 Seroprevalencia de brucelosis en búfalos (*Bubalus bubalis*) en el municipio de El Rama (RACCS)

Seroprevalencia a *Brucella abortus*

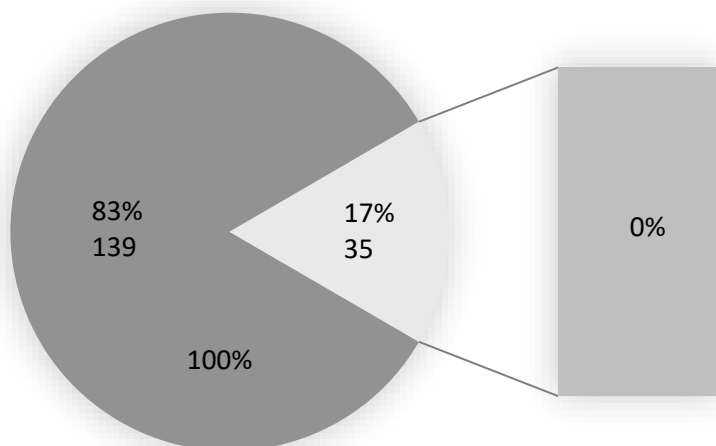


Figura 8. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en búfalos

La población estudiada es de 174 animales que equivalen al 100% de los cuales se muestrearon 35 animales, que equivale al 17%, tomando en cuenta la fórmula estadística del total de búfalos, de la cual el 83% no fueron muestreados. De los animales muestreados ninguno presentó reactividad a *Brucella abortus* por lo que se determinó que el 0% es no reactor.

Los resultados obtenidos en este estudio indican una prevalencia no significativa a brucelosis de un 0% en búfalos de agua de la empresa San José S.A en el municipio de El Rama; por lo que, la hipótesis nula se mantiene, no encontrando anticuerpos IgM o IgG anti-*brucella*.

Tomando como referencia la prevalencia reportada para Brucelosis en Bovino de un 0.18 % en Nicaragua por el instituto de protección y sanidad agropecuaria (IPSA, 2013). Podemos decir que no superó la expectativa planteada.

Con una prevalencia del 0% en estos búfalos de agua. Es importante resaltar que esta prueba (Rosa de bengala) es considerada según la (OIE, 2019) una de las pruebas adecuadas tanto para analizar rebaños/manadas, como animales específicos, ya sean pequeños rumiantes, camélidos o bovinos (ganado bovino o búfalos), siendo esta la principal utilizada en el país para la detección de *Brucella abortus*, ya que los resultados obtenidos, han sido confiables y seguros,

bajo estudio frente a un agente etiológico como es el caso de este patógeno anteriormente mencionado.

Acorde al trabajo por (Catro. R. et al., 2016). Fue determinar la seroprevalencia de brucelosis en el ganado bufalino de la Hacienda Zuarraga, Pueblo Rico, Risaralda. Dicha hacienda contaba con 200 búfalos raza Murrah de los cuales se encontraban 36 en ordeño en el momento de la investigación. Se tomó una muestra de la población de 30 animales a los que se les realizó una prueba de Rosa de Bengala para determinar la seropositividad a la brucelosis. La importancia radica en que el ganado bufalino no demuestra sintomatología aparente y se convierte fácilmente en un foco de infección transmitiendo la enfermedad a otras especies. Los resultados obtenidos mediante la prueba de Rosa de bengala, mostraron negatividad a la presencia de la enfermedad en el hato.

De acuerdo con los resultados obtenidos por (Llenera, 2019) en su estudio de prevalencia de brucelosis en el ganado bufalino en producciones de Palma aceitera en el Municipio de Morales, en el Departamento de Izabal, Guatemala 2018, se pudo constatar que el 17% del hato muestreado cuenta con anticuerpos contra el agente etiológico *Brucella spp.* Demostrándose así que los búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) son una especie altamente susceptible a enfermedades infectocontagiosas y constituyen un papel importante en la epidemiología de dicha enfermedad.

Por tal razón es de suma importancia realizar las medidas zoonosanitarias correctas en cada producción bufalina, para evitar el contagio de enfermedades, como en este caso, de búfalos reactivos a *Brucella abortus* del Departamento de Izabal (Guatemala) que tuvieron contacto directo con bovinos, siendo este un posible foco de infección; teniendo en cuenta que los fangos en los terrenos anegados pudiesen ser otra causa de albergue del agente etiológico, esto a causa de excreciones y secreciones de animales infestados, que según (SINAVE, 2013) expresa que la bacteria *Brucella abortus* tiene una sobrevivencia en fómites como es el suelo y el estiércol de 80 días.

Según estudios por (García, 2018, p. 60) sobre la “Determinación de la prevalencia a Brucelosis en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cuatro unidades de producción de los Estados de Tabasco y Veracruz de la Región Tropical de la República Mexicana”. Los resultados obtenidos en este estudio indican una prevalencia del 17.75% en esta especie, por lo que, la hipótesis

propuesta se desecha debido a que supera la expectativa planteada que era de una prevalencia no mayor al 3% que es lo reportado para bovinos en la campaña nacional para dichos Estados.

Esto se debe por diferentes factores que en la investigación de (García, 2028, p.62) no se presentan, como la falta del control sanitario que no ha tenido gran difusión en las unidades de producción en estudio, sin embargo, en esta investigación realizada en la empresa San José S.A tiene un mejor manejo de la parte sanitaria de los búfalos, ya que no tienen ningún contacto con bovinos de las zonas aledañas, ya que si lo hubiese, las probabilidades de que estos bufalinos se contagien de esta enfermedad serán mayores, teniendo en cuenta que si esos bovinos pudiesen tener dicha patología, se obtendrían resultados estadísticos de prevalencia diferentes a los plasmados en esta investigación, de igual forma mayor tasa de mortalidad y abortos.

El resultado de este estudio permite inferir que, gracias a la campaña de erradicación de brucelosis en bovinos, realizada por el IPSA , ha dado buena respuesta, ya que los búfalos son reservorios igual que los bovinos, pero aun así no se han reportado casos reactivos en estos animales bufalinos del municipio de El Rama; sin embargo, esto no significa que la enfermedad no se encuentre presente en poblaciones bufalinas en otra parte de Nicaragua, ya que en el caso de los búfalos de agua las medidas de control sanitario no han tenido gran difusión como en los demás bovinos.

En la actualidad, el interés por parte de los productores sobre explotar más la especie bufalinas y consigo obtener mayores beneficios por parte de estas, ha hecho mayor la convivencia del búfalo de agua con el ganado bovinos y por lo consiguiente traer consigo riesgos de transmisión de ciertos agentes infecciosos que afecten el desarrollo pecuario y así mismo la salud pública como es el caso de la *Brucella abortus*.

Conociendo que la brucelosis, es una enfermedad ampliamente estudiada a nivel mundial debido a la importancia, al riesgo y la gravedad que esta representa, ya que es de carácter zoonótico; esta patología es un gran riesgo en el área de producción bovina debido a la reciente inclusión del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en las unidades de producción como un animal productivo el cual ha demostrado una excelente capacidad de adaptación; sin embargo, esta condición propia de los búfalos de agua no representa ausencia total de ciertas enfermedades que afecten al mismo tiempo a bovinos y a otras especies incluyendo al ser humano, siendo una manera de contraer la enfermedad. (García, 2018, p. 64-65)

Existen diferentes factores que influyen en la ausencia de esta patología en estos búfalos de agua de la empresa en cuestión, una de ellas es por la correcta medida zoosanitarias implementadas por la empresa; otro motivo puede ser la climatología de la zona, ya que la *Brucella abortus* puede sobrevivir en el pasto durante periodos variables, en dependencia de las condiciones climatológicas.

En climas templados, la capacidad infecciosa de esta bacteria puede permanecer durante cien días en invierno, sin embargo, en el verano puede sobrevivir hasta treinta días, teniendo una gran capacidad de sobrevivir y persistir en el ambiente. Aunque por otro lado estas bacterias son bastante sensibles al calor, así una suspensión diluida de *Brucellas* se destruye rápidamente al ser sometida a la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60°C por 30 minutos. (SINAVE, 2013)

Cuadro 2. Tiempo de supervivencia de *Brucella* en diferentes fómites

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones en verano	10-30 minutos
Lanas o pelo almacenadas	110 días
Agua a 37°C y pH 7.5	Menos de 24 horas
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
Heces bovinas naturales	1-100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días
Materia fecal húmeda	240 días
Secreciones post parto de animales	1-2 meses

Fuentes: SINAVE (2013)

Se debe de tener en cuenta que una manera de propagar la *Brucella abortus* es por los abortos mediante la placenta expulsada por el bovino, debido a que esta puede contaminar los pastos, suelos, aguas y fómites, abarcando mayor territorio, provocando un alto contagio a otros animales, así como también a las personas que laboran en dicha unidad de producción. Es importante tomar todas las medidas de bioseguridad al momento de tratar a un animal enfermo o sospechoso, tanto como para esta patología u otras de ámbito zoonótico.

Es fundamental implementar todas las medidas de desinfección de toda el área dispuesta y predispuesta a la contaminación por esta bacteria y estar monitoreando a los demás bovinos por si presentan algún síntoma característico de la enfermedad, poder trasladarlo a un lugar de cuarentena, esto con el fin de aislarlo de los demás animales aparentemente sanos y realizarle los exámenes pertinentes para el descarte de esta patología, como es la prueba de Rosa de bengala.

De acuerdo al (Instituto for international cooperation in animal biologics, 2009) Existen desinfectantes que ayudan a la eliminación de la *Brucella*, dentro de estos se encuentran los más comunes como son las soluciones de hipoclorito, el etanol al 70%, el isopropanol, los yodóforos, los desinfectantes fenólicos, el formaldehído, el glutaraldehído y el xileno; sin embargo, se debe de tener en consideración que la materia orgánica y las bajas temperaturas disminuyen la eficacia de estos desinfectantes. Se ha reportado que los desinfectantes que eliminan esta bacteria de las superficies contaminadas incluyen el hipoclorito de sodio al 2.5%, la soda cáustica al 2 o 3%, una suspensión de cal apagada al 20% o una solución de formaldehído al 2% (todos probados durante una hora).

Para el caso de las 5 zonas en las que se encuentran divididos los búfalos, es importante realizar un segundo muestreo dentro de 6 meses, con el fin de verificar el mantenimiento del 0% de prevalencia; sin embargo, para considerar la empresa libre de brucelosis se deben de muestrear a todos los búfalos 2 veces al año, como lo establece el acuerdo ministerial No. 008-2009 Medidas Sanitarias para el control y erradicación de la Brucelosis Bovina en Nicaragua. (Bucardo, 2009)

VI. CONCLUSIONES

Con ayuda de la prueba de inmunidad humoral se evaluó la prevalencia de brucelosis en búfalos de la empresa San José S.A del municipio de El Rama (RACCS), ya que esta prueba de Rosa de bengala es la más confiable y económica, con la que por muchos años ha venido trabajado el Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos (LCDVMA), por ende, dicho estudio se realizó con la prueba ante mencionada. Se debe de tener en cuenta que su sensibilidad es del 94% y una especificidad del 100%. Esta técnica determina la aglutinación de cada muestra de sueros llevadas al laboratorio en estudio, en caso de que esta salga reactiva, siendo lo contrario, es decir, que no haya aglutinación, se determina como no reactiva.

Se obtuvieron resultados favorables, ya que, mediante este análisis, no se identificaron anticuerpos específicos contra *Brucella abortus* en búfalos de agua de dicha empresa. Mediante el uso de la técnica de Rosa de bengala, se determinó una prevalencia del 0% de los animales muestreados, lo que permite tener conocimiento de la situación seroepidemiológica para dicha especie en El Rama.

Se debe de tener en cuenta que la brucelosis es difícil de erradicar, pero aplicando la tecnología disponible para la prevención y el diagnóstico, se puede identificar y eliminar los animales reactivos a dicha patología, se puede llegar a erradicar llevando a cabo cada uno de los pasos de la campaña oficial contra la brucelosis bovina en Nicaragua. De igual manera se requiere de más estudios acerca de esta enfermedad en los animales de nueva inclusión en el ámbito zootécnico, así mismo es importante generar información que permita conocer la prevalencia de la brucelosis en los búfalos, como es el caso de este estudio en el municipio de El Rama (RACCS).

Como contraparte y en colaboración con la ayuda que fue suministrada, se entregó material con resultados y recomendaciones a la empresa San José S.A, así como vóucher con medidas preventivas de la enfermedad a disposición de la población, con el fin de que conozcan el gran impacto que pueden ocasionar las diferentes enfermedades en la salud humana y animal, repercutiendo siempre en la parte económica a nivel mundial.

VII. RECOMENDACIONES

Mantener la crianza separada entre búfalos de agua y otras especies rumiantes o susceptibles a esta patología, ya que también pueden mantener latente la presencia del agente en el medio, así como también otras infecciones, siendo un foco importante de transmisión de las mismas.

Para realizar una buena observación de aglutinación con la técnica de Rosa de bengala, es recomendable ejercer movimientos ondulatorios por cuatro minutos y posterior observar rápidamente, ya que si no se realizar de la manera correcta puede dar un falso negativo.

Se requiere realizar muestreo a todo el hato bufalino para declarar hato libre de brucelosis y así establecer medidas de control

Efectuar campañas de concientización e información para la población en general sobre el riesgo que representa esta zoonosis como lo es la brucelosis en búfalos

Sería interesante realizar estudios de prevalencia de brucelosis en otros lugares de Nicaragua donde se encuentren búfalos, tales como: Zoológicos, fincas y empresas donde trabajen con estos animales

Implementar medidas preventivas y en caso necesario medidas de control en lugares de explotación bufalinas

VIII. LITERATURA CITADA

- Barberán Pelegrín. (2019). *Estudio de los casos positivos a Brucella spp. en cetáceos varados en las Islas Canarias* (Tesis de pregrado). Universidad de Zaragoza, Aragón, España.
- Bucardo Rocha, A. (2009). *Acuerdo ministerial 08-09 medidas sanitarias para el control y erradicación de la brucelosis bovina en Nicaragua*. [Archivo PDF]. [http: ACUERDO MIN 08-09 MEDIDAS SANITARIAS PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN NIC.pdf \(ipsa.gob.ni\)](http://ACUERDO MIN 08-09 MEDIDAS SANITARIAS PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN NIC.pdf (ipsa.gob.ni))
- BCN. (2021). Informe trimestral del Producto Interno Bruto Primer trimestre 2021 [Archivo PDF]. Guia-Normas-APA-7ma-edicion.pdf
- Cáceres. L. (2018). *Ciclo de vida de Brucella abortus*. [Figura]. [http: Documento_completo.pdf-PDFA.pdf \(unlp.edu.ar\)](http://Documento_completo.pdf-PDFA.pdf (unlp.edu.ar))
- Cáceres. L. (2018). “*Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de diferentes establecimientos ganaderos del Paraguay*”. [Archivo PDF] [http: Documento_completo.pdf-PDFA.pdf \(unlp.edu.ar\)](http://Documento_completo.pdf-PDFA.pdf (unlp.edu.ar))
- Calderón. A., Angulo. L., Tique. V., Rodríguez, V., Ensuncho. C. (2015). *Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe Colombiano*. [Archivo PDF] [http: brucella-caribe-2015.pdf \(unicordoba.edu.co\)](http://brucella-caribe-2015.pdf (unicordoba.edu.co))
- Calderón-Rangel, A., Angulo-Maza, L.A., Tique-Salleg, V.P., Rodríguez-Rodríguez, V.C., Ensuncho-Hoyos, C.F. (2015). Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. *Orinoquia*, 19(2), 203-209. <https://www.redalyc.org/pdf/896/89645829007.pdf>
- Catro. R, Ormaza. M, Echeverry. L., *Prevalencia de brucelosis en búfalos de la hacienda Zuarraga, Pueblo Rico, Risaralda, Colombia* (2016). [92123134.pdf \(core.ac.uk\)](http://92123134.pdf (core.ac.uk))
- Databio., Instituto nacional de seguridad e higiene. (2013). *Brucella spp*. <https://www.insst.es/documents/94886/353495/Brucella+spp.pdf>

- Díaz. A. (20 abril 2018). *Búfalo: Origen, Significado, Características y más*.
<http://tumamifero.com/c-bovinos/bufalo/>
- EFE. (28 abril 2021). La ganadería de Nicaragua acuerda impulsar agenda de sostenibilidad ambiental. *Elperiódico*. <https://elperiodico.com.gt/noticias/internacionales/2021/04/28/la-ganaderia-de-nicaragua-acuerda-impulsar-agenda-de-sostenibilidad-ambiental/>
- Enciso López. L. A (2021, marzo, 17). *Brucelosis Bovina. Causas, signos y prevención* [Blog].
http: Brucelosis Bovina. Signos y prevención - Blog Agrocampo Colombia
- EL SIGLO DE DURANGO (1 de junio de 2020). *Importancia de la pasteurización*. [http: Importancia de la pasteurización \(elsiglodedurango.com.mx\)](http://Importancia%20de%20la%20pasteurizaci%C3%B3n%20(elsiglodedurango.com.mx))
- El Rama. (8 de abril de 2021). *El municipio de El Rama*. [http: El Rama en la region de Atlántico Sur - Municipio y alcaldía de Nicaragua - alcaldía Nicaragua - Información alcaldía, ciudades y pueblos de Nicaragua](http://El%20Rama%20en%20la%20region%20de%20Atl%C3%A1ntico%20Sur%20-%20Municipio%20y%20alcald%C3%ADa%20de%20Nicaragua%20-%20alcald%C3%ADa%20Nicaragua%20-%20Informaci%C3%B3n%20alcald%C3%ADa,%20ciudades%20y%20pueblos%20de%20Nicaragua)
- EcuRed. (7 de agosto de 2019). *El Rama (Nicaragua)*.
[https://www.ecured.cu/index.php?title=El Rama \(Nicaragua\)&oldid=3491910](https://www.ecured.cu/index.php?title=El_Rama_(Nicaragua)&oldid=3491910)
- García Muñoz, R.A. (2018). “*Determinación de la prevalencia a brucelosis en búfalos de agua (Bubalus bubalis) en cuatro unidades de producción de los estados de Tabasco y Veracruz de la Región Tropical de la República Mexicana*” [Archivo PDF]. ROBERTO ANTONIO GARCÍA MUÑOZ.pdf (uaemex.mx)
- Gil, M. (23 de diciembre, 2019). *Rosa de bengala: Fundamento, procedimiento, control de calidad*. [http: Rosa de bengala: fundamento, procedimiento, control de calidad \(lifeder.com\)](http://Rosa%20de%20bengala:%20fundamento,%20procedimiento,%20control%20de%20calidad%20(lifeder.com))
- Huerta. N. (24 mayo 2018). *El Búfalo y su importancia Mundial. ¿Oportunidad para la pecuaria mexicana?* <https://bmeditores.mx/ganaderia/el-bufalo-y-su-importancia-mundial-oportunidad-para-la-pecuaria-mexicana-1427/>


- Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA). (2013). Estudio para determinar la Prevalencia de Brucelosis bovina en los municipios del El Rama, La Cruz del Río Grande, El Coral, Boaco y El Viejo y su interrelación con la brucelosis en humano, así como la prevalencia de la Tuberculosis bovina en los municipios de Dolores y San Marco. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Ohddo7WdVQ4J:www.ipsa.gob.ni/Portals/0/3%20Salud%20Animal/Vigilancia%20Epidemiologica/Area%20Bovina/TB%20y%20BR/PROTOCOLO%2005%20MUNICIPIOS%20BRUCELOSIS%20TUBERCULOSIS%20%20BOVINA%202013.doc+&cd=3&hl=es&ct=clnk&gl=ni>
- Institute for international cooperation in animal biologics. (2009). *Brucelosis bovina: Brucella abortus* [Archivo PDF]. [http: Brucelosis bovina: Brucella abortus \(iastate.edu\)](http://www.iastate.edu/brucelosis-bovina-brucella-abortus)
- Institute for international cooperation in animal biologics. (2009). *Brucelosis en mamíferos marinos* [Archivo PDF]. [http: brucelosis-en-mamiferos-marinos.pdf](http://www.iastate.edu/brucelosis-en-mamiferos-marinos.pdf)
- Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA). (2016). *Programa Nacional de Erradicación y Control de Tuberculosis* [Archivo PDF]. <https://www.ipsa.gob.ni/Portals/0/Noticias/Congreso%20bovino/PROGRAMA%20NACIONAL%20DE%20ERRADICACION%20DE%20BRUCELOSIS%20Y%20CONTROL%20DE%20TUBERCULOSIS.pdf>
- Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA). (2021) *Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos*. [http: F 7.4.1.4 recepción de Muestra de Propietario Independiente para DV.pdf \(ipsa.gob.ni\)](http://www.ipsa.gob.ni/F7.4.1.4-recepcion-de-Muestra-de-Propietario-Independiente-para-DV.pdf)
- Llerena Barrientos. (2019). *Prevalencia de brucelosis y leucosis bovina en el ganado bufalino (Bubalus bubalis) en producciones de Palma Aceitera en el Municipio de Morales, en el Departamento de Izabal, año 2018*. [Archivo PDF]. [Tesis MV Beborah Barrientos.pdf \(usac.edu.gt\)](http://www.usac.edu.gt/tesis-mv-beborah-barrientos.pdf)
- Martínez, P. (29 mayo 2019). *Brucelosis bovina - Síntomas y tratamiento*. <https://www.expertoanimal.com/brucelosis-bovina-sintomas-y-tratamiento-24264.html>

- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2015). *Hojas informativas; Enfermedades de los animales silvestres* [Archivo PDF]. [http: WD_ES.pdf](http://WD_ES.pdf) (oie.int)
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIEa). (2018). *Identificación del agente – OIE*. [http: fmd with viaa test incl.](http://fmd-with-viaa-test-incl) (oie.int)
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIEb). (14 enero 2013). *Una sola salud*. <https://www.oie.int/es/una-sola-salud/>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIEc) (2018). *Manual de animales Terrestres Brucelosis (Brucella abortus, B. Melitensis y B.Suis) (Infección por B. abortus, B. Melitensis y B. Suis)*. [http: fmd with viaa test incl.](http://fmd-with-viaa-test-incl) (oie.int)
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2019). *Código sanitario para los animales terrestre*. <https://www.oie.int/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2021). *Brucelosis*. [http: Brucelosis - OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal](http://Brucelosis-OIE-Organización-Mundial-de-Sanidad-Animal)
- Organización mundial del comercio. (18 enero 2018). *El Director General Adjunto Alan Wolff dice que la OMC desempeña un papel crucial para avanzar en el logro del ODS relativo a la seguridad alimentaria*. https://www.wto.org/spanish/news_s/news18_s/ddgra_18jan18_s.htm
- Tomassi Van- Koppenhagen, M., Szwako-González, A. (2020). *Genotipificación de cepas de Brucella spp. en cultivos aislados de rumiantes en el Paraguay* [Archivo PDF]. <http://www.vet.una.py/brucella/pdf/REVISION%20BRUCELOSIS%20PINV15-377.pdf>
- Vega López, C., Ariza Andraca, R., y Rodríguez Weber, F. (2008). *Brucelosis. Una infección vigente*. Medigraphic, 6. (4). [http: Brucelosis. Una infección vigente](http://Brucelosis.Una-infección-vigente) (medigraphic.com)
- Zimmer P.A (24 junio 2014). *Brucelosis en búfalos*. <https://www.ivis.org/library/bubaline-theriogenology/brucelosis-en-b%C3%BAfalos>
- Instituto de protección y sanidad agropecuaria (2021) *Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario y Microbiología de los Alimentos*. [http: F 7.4.1.4 recepción de Muestra de Propietario Independiente para DV.pdf](http://F7.4.1.4-recepción-de-Muestra-de-Propietario-Independiente-para-DV.pdf) (ipsa.gob.ni)

IX. ANEXOS

Anexo 1. Formato de recepción de muestra

LABORATORIO CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Y MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS LCDVMA.	
Protocolo N°:	_____
Fecha de Ingreso:	_____
Recibido Por:	_____
Fecha Probable de Resultado:	_____

		LABORATORIO CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Y MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS (LCDVMA) F 7.4.1.2 RECEPCIÓN DE MUESTRA PARA DIAGNÓSTICO VETERINARIO Pág. 1 de 2	
1. Protocolo N° _____			
2. Personas de Contacto			
Propietario			
2.1. Primer Apellido	2.2. Segundo Apellido	2.3. Nombres	2.4. Teléfono/Celular 2.5. E-mail
Remitente			
2.6. Primer Apellido	2.7. Segundo Apellido	2.8. Nombres	2.9. Teléfono/Celular 2.10. E-mail
3. Localización			
3.2. Nombre de la Finca/Granja:		3.3. Dirección Exacta de la Finca/Granja	3.1. Coordenadas (GPS)
			M P
3.4. Región	3.5. Departamento.	3.6. Municipio	3.7. Comarca 3.8. Código de la Finca
3.9. Región (IPSA)	3.10. Recolectado por:		3.11. Fecha de Recolección
4. Datos de los Animales			
4.1. Total de Animales:	4.2. N° Enfermos:	4.3. N° Muertos:	4.4. N° Muestreados
5. Propósito del Muestreo			
5.1. <input type="checkbox"/> Diagnóstico General 5.2. <input type="checkbox"/> Vigilancia activa 5.3. <input type="checkbox"/> Denuncia 5.4. <input type="checkbox"/> Feria / Exposición 5.5. <input type="checkbox"/> Otro			
5.6. <input type="checkbox"/> Saneamiento 5.7. <input type="checkbox"/> Hato Libre 5.8. <input type="checkbox"/> Renovación 5.9. <input type="checkbox"/> Exportación 5.10. <input type="checkbox"/> Importación 5.11. <input type="checkbox"/> Seguimiento de caso			
5.12. N° de Protocolo Anterior de Seguimiento de Caso _____			
5.13. País de Origen:	5.14. País Destino:	5.15. N° Permiso o Matchamo:	

Prohibida la reproducción total o parcial del documento. Derechos reservados por el Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria ©

Fuente: Propia

Anexo 2. Formato de remisión de muestra

LABORATORIO CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Y MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS		F 7.4.1.2 RECEPCIÓN DE MUESTRA PARA DIAGNÓSTICO VETERINARIO		Pág. 2 de 2	
6. Especie del Animal:				7. Enfermedad (es) a Diagnosticar	
6.1. <input type="checkbox"/> Bovino	6.2. <input type="checkbox"/> Equino	6.3. <input type="checkbox"/> Porcino	6.4. <input type="checkbox"/> Ceprino	7.1.	
6.5. <input type="checkbox"/> Ovino	6.5. <input type="checkbox"/> Gallinas/Pollas	6.6. <input type="checkbox"/> Otras aves	6.7. <input type="checkbox"/> Camarón	7.2.	
6.8. <input type="checkbox"/> Abeja	6.9. <input type="checkbox"/> Otros:			7.3.	
Protocolo N°: _____					
8. Muestras Enviadas			9. Preservación de la Muestra		
8.1. <input type="checkbox"/> Sangre	8.2. <input type="checkbox"/> Suero	8.3. <input type="checkbox"/> Leche	8.4. <input type="checkbox"/> Gusanos	9.1. <input type="checkbox"/> Ninguna	9.2. <input type="checkbox"/> Formol
8.5. <input type="checkbox"/> Heces	8.6. <input type="checkbox"/> Hiepopado	8.7. <input type="checkbox"/> Tejido	8.8. <input type="checkbox"/> Crustáceos	9.3. <input type="checkbox"/> Hielo o gel	9.4. <input type="checkbox"/> Hielo seco
8.9. <input type="checkbox"/> Órgano	9.10. <input type="checkbox"/> Huevos	8.11. <input type="checkbox"/> Otro:		9.5. <input type="checkbox"/> Alcohol 70%	
10. Área Asignada: 10.1. <input type="checkbox"/> - VR 10.2. <input type="checkbox"/> - PT 10.3. <input type="checkbox"/> - SR 10.4. <input type="checkbox"/> - PR 10.5. <input type="checkbox"/> - MV					
11. Identificación de las Muestras					
11.1. N° Muestra	11.2. Identificación del Animal	11.3. Raza	11.4. Edad	11.5. Sexo	11.6. Vacunado
					11.7. Características
12. Propósito Zootécnico					
14.1. <input type="checkbox"/> Leche		14.2. <input type="checkbox"/> Carne		14.3. <input type="checkbox"/> Doble propósito	
14.4. <input type="checkbox"/> Deporte		14.5. <input type="checkbox"/> Trabajo		14.6. <input type="checkbox"/> Reproducción	
14.7. <input type="checkbox"/> Incubadora		14.8. <input type="checkbox"/> Reproductores		14.9. <input type="checkbox"/> Ponedora	
14.10. <input type="checkbox"/> Engorde		14.11. <input type="checkbox"/> Otro:			
13. Observaciones (Síntomas, Vacunaciones, Tratamientos, Diagnósticos Presuntivos, Hallazgos de Necropsia)					
14. Firma del Médico Veterinario		15. Entregado por		16. Recibido por	
17. Fecha y Hora de Recepción: _____			18. N° de RecibolPSA: _____		
<small>19. Aceptación de Política y Obligaciones del cliente. El cliente declara y acepta todos los alcances, la política y metodología establecidos por el laboratorio para la realización de análisis o los análisis. Así como su obligación de llevar y declarar como venir toda la información que se establece en este formato. El laboratorio no se hace responsable por la forma y manejo de la muestra antes de su destino receptor, manteniéndose el derecho de analizar o no dicha muestra. Ambos partes reconocen sus obligaciones y derechos respectivos para el cumplimiento, naturaleza y objeto de los servicios prestados. El cliente al Muestreo o Servicio de Interpretación de los resultados de los análisis.</small>					
20. Fecha de Retiro:		Persona que Retira:		Firma:	

Fuente: Propia

Anexo 3. Protocolo de trabajo de Rosa de Bengala

IPSA
PROTOKOLO DE TRABAJO DE ROSA DE BENGALA

ANTIGENO ROSA DE BENGALA: _____ LOTE: _____ VERIFICADO POR: _____
 HORA DE INICIO DE ATEMPERADO: _____ FECHA DE VENCIMIENTO: _____ CARGO: _____
 HORA DE INICIO DE PRUEBA: _____ ANALISTA: _____ FIRMA: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	PROTOCOLO E	
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36		
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48		Fecha de Analisis:
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60		Antigeno 30 µl
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72		Muestra: 30 µl
												Control (+)	
												Control (-)	

Prohibida la reproducción total o parcial del documento. Derechos reservados para el Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria
F.7.2.1.1 SR

Fuente: Propia

Anexo 4. Materiales a utilizar



Fuente: Propia

Anexo 5. Extracción de sangre (V.Y)



Fuente: Propia

Anexo 6. Punción en la vena yugular



Fuente: Propia

Anexo 7. Búfalos de agua



Fuente: Propia

Anexo 8. Recepción de muestra (LCDVMA)



Fuente: Propia

Anexo 9. Protocolo de Rosa de bengala



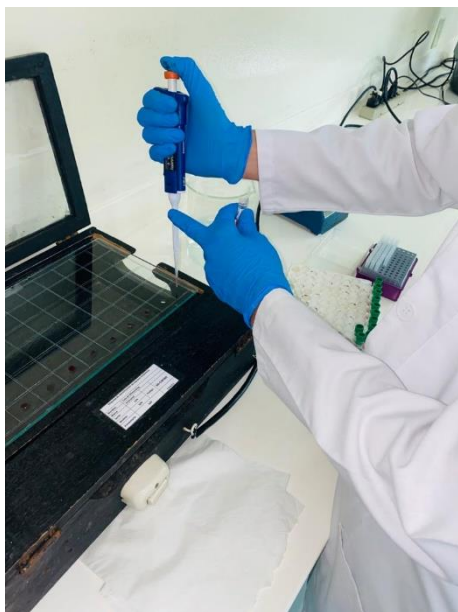
Fuente: Propia

Anexo 10. Removiendo el coágulo de las paredes del tubo



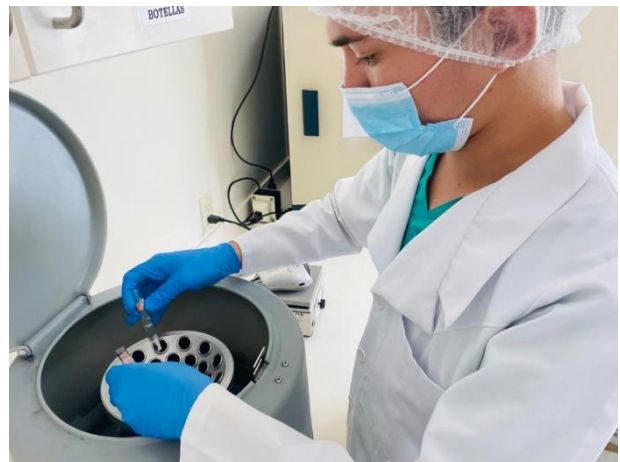
Fuente: Propia

Anexo 12. Depósito del suero



Fuente: Propia

Anexo 11. Centrifugado de las muestras



Fuente: Propia

Anexo 13. Depósito de la R.B



Fuente: Propia

Anexo 14. Mezcla del antígeno y el suero



Fuente: Propia

Anexo 15. Girando lámina por 4 minutos



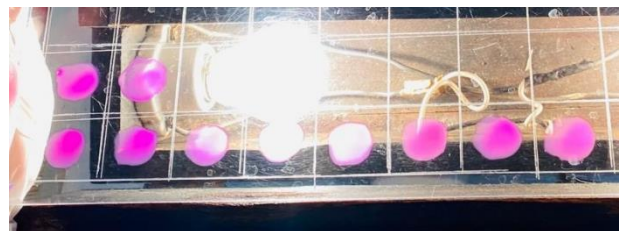
Fuente: Propia

Anexo 16. Lectura sobre la caja de Wisconsing



Fuente: Propia

Anexo 17. Ausencia de aglutinación en las muestras



Fuente: Propia

Anexo 18. Cuadro de Excel sobre los datos de los búfalos muestreados

1	Identificaci	# de Zona	Nombre	Especie	Raza	Categori	Edad	Sexo	Tipo de m	Tipo de t	Resultado
2	848600051 (16	5	Mamut	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
3	0065771661 (1	4	Lambre	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
4	000518877 (08	2	Vato	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
5	- (1	5	Recuerdo	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	4 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
6	005814576 (16	3	Mat	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
7	000818479 (16	4	Celindo	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
8	005883036 (13	3	Bravo	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
9	00576215 (036	1	Negri	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
10	000518482 (15	3	El Tonto	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
11	000518869 (07	2	El Rubio	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	5 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
12	006752762 (06	2	Pavo	Búfalo	Murrah	Búfalo (Toro	6 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
13	00576116 (035	1	Red	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
14	623000721 (13	3	Lisis	Búfalo	Nili-Ravi	Búfala (Vaca	4 años	Hembra	Suero	Rosa de ben	No Reactor
15	763001623 (08	2	Fire	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
16	636001212 (17	3	Lindo	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
17	000123623 (10	1	Tornado	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
18	00058264 (034	1	El chile	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
19	000326271 (09	2	Zambo	Búfalo	Murrah	Búfalo (Toro	4 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
20	126007214 (14	3	Reyna	Búfalo	Murrah	Búfala (Vaca	3 1/2 años	Hembra	Suero	Rosa de ben	No Reactor
21	231001224 (11	3	Temura	Búfalo	Murrah	Búfalo (Toro	4 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
22	000141621 (05	2	Feo	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
23	000550627 (09	2	Corinto	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	5 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
24	125001261 (17	3	Ander	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	5 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
25	000526102 (10	2	El flojo	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
26	112001621 (01	1	Torito	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
27	338456002 (07	1	Negrusco	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	5 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
28	018951066 (11	3	Blanco	Búfalo	Murrah	Búfalo (Toro	5 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
29	328300124 (13	3	Pesado	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
30	780091233 (02	1	Peréz	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	4 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
31	005816645 (06	1	Lorito	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
32	120048870 (11	3	El Flaco	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	4 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
33	512226001 (08	2	El Loco	Búfalo	Murrah	Búfalo entero	3 1/2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
34	980023014 (02	1	Relámpago	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	3 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
35	306354991 (12	3	El quieto	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo entero	2 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor
36	899100230 (01	1	Dorado	Búfalo	Nili-Ravi	Búfalo (Toro	5 años	Macho	Suero	Rosa de ben	No Reactor

Fuete: Propia

Anexo 19. Cantidad de animales muestreados por cada zona

Tipo de animal	Zona 1 (Areno)	Zona 2 (Semana Santa)	Zona 3 (Las Lapa)	Zona 4 (Chalmeca)	Zona 5 (Corosal Planet)
Hembras adultas	-	-	2/2	-	-
Machos adultos	10/43	9/46	10/44	2/19	2/20
Sub-total	10	9	12	2	2
Total	35 búfalos				

Fuente: Propia

Anexo 20. Manejo Zoonosanitario y Zoonohigiénicos de los búfalos

Vacunación	Tiempo
Vacunas Clostridiales (Bacteria biobac 11 vías)	Cada 6 meses
Vacuna contra Fiebre Carbonosa	Cada 12 meses
Desparasitación: Ivermectina, Febendazol, Doramectina, etc.	Cada 3 meses
Vitaminación: Impulsor Ns. Vitamina AD3E	Cada 3 meses
Baños Acaricidas	(Profiláctico)
Aplicación de loción podales (a base de Formaldehído)	2 veces al mes
Limpieza de la instalación (Agua y jabón líquido)	Diariamente

Fuente: Empresa San José S.A