



**Estudio epidemiológico y económico de la brucelosis en bovinos de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí – Ecuador**

Paredes Galarza, Agadir Julian

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Dr. Ron Roman, Jorge Washington, PhD.

07 de septiembre de 2021

## Document Information

Analyzed document	TESIS_A_PAREDES_VF-signed.pdf (D111761708)	
Submitted	8/27/2021 8:23:00 PM	
Submitted by	 JORGE WALBERTO ROMAN	
Submitter email	biblioteca@espe.edu.ec	
Similarity	6%	
Analysis address	biblioteca.GDC@analysis.urkund.com	

## Sources included in the report

<b>W</b>	URL: <a href="https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/14485/5/T-ESPESD-002827.pdf">https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/14485/5/T-ESPESD-002827.pdf</a> Fetched: 11/8/2019 1:56:17 AM		8
<b>W</b>	URL: <a href="http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2507/1/T-ESPE-IASA%20I-003803.pdf">http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2507/1/T-ESPE-IASA%20I-003803.pdf</a> Fetched: 8/12/2021 5:01:37 AM		3
<b>W</b>	URL: <a href="http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14885/1/T-UCE-0014-061-2018.pdf">http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14885/1/T-UCE-0014-061-2018.pdf</a> Fetched: 7/8/2021 2:25:24 PM		7
<b>J</b>	<b>Control y erradicación de Brucela abortus en establos lecheros</b> URL: <a href="https://doi.org/10.1186/s12917-019-1825-9">e6122b16-d632-48ea-808f-e6a44951ee85</a> Fetched: 1/29/2021 5:14:42 AM		1
<b>SA</b>	<b>TESIS-DIANA-Y-PRISCILA FIN URKUND.docx</b> Document TESIS-DIANA-Y-PRISCILA FIN URKUND.docx (D38974336)		3
<b>W</b>	URL: <a href="https://core.ac.uk/download/pdf/71901859.pdf">https://core.ac.uk/download/pdf/71901859.pdf</a> Fetched: 7/20/2020 3:47:02 PM		2
<b>W</b>	URL: <a href="https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2507/1/T-ESPE-IASA%20I-003803.pdf">https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2507/1/T-ESPE-IASA%20I-003803.pdf</a> Fetched: 5/15/2021 6:40:34 PM		2
<b>W</b>	URL: <a href="https://es.slideshare.net/omargp100/odds-ratio-27849262">https://es.slideshare.net/omargp100/odds-ratio-27849262</a> Fetched: 8/27/2021 8:25:00 PM		2
<b>W</b>	URL: <a href="https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/Acha-Zoonosis-Spa.pdf">https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/Acha-Zoonosis-Spa.pdf</a> Fetched: 8/27/2021 8:25:00 PM		1
<b>W</b>	URL: <a href="http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1551/7/CD552_TESIS.pdf">http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1551/7/CD552_TESIS.pdf</a> Fetched: 2/8/2021 5:32:20 AM		1
<b>W</b>	URL: <a href="https://doi.org/10.1186/s12917-019-1825-9">https://doi.org/10.1186/s12917-019-1825-9</a> Fetched: 8/27/2021 8:25:00 PM		4
<b>W</b>	URL: <a href="http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16129/1/TTUACA-2020-MV-DE00013.pdf">http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16129/1/TTUACA-2020-MV-DE00013.pdf</a> Fetched: 5/19/2021 10:16:56 AM		1



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación **“Estudio epidemiológico y económico de la brucelosis en bovinos de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí – Ecuador”** fue realizado por el señor **Paredes Galarza, Agadir Julián**, el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con todos los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

**Sangolqui 07 de septiembre de 2021**

Firma



Proceso de verificación por:  
**JORGE  
WASHINGTON RON  
ROMAN**

-----  
**Ron Roman, Jorge Washington**

CC: 170950512-5



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA**

**RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA**

Yo, **Paredes Galarza, Agadir Julian** con cédula de ciudadanía N 17145853-1, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Estudio epidemiológico y económico de la brucelosis en bovinos de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí – Ecuador”**; es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolqui 07 de septiembre de 2021**

Firma

**Agadir  
Paredes  
Galarza**

Firmado digitalmente  
por Agadir Paredes  
Galarza  
Fecha: 2021.09.13  
10:47:37 -05'00'

**Paredes Galarza, Agadir Julian**

CC: 171459535-1



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACION DE PUBLICACIÓN

Yo **Paredes Galarza, Agadir Julian**, con cédula de ciudadanía N 17145853-1, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “**Estudio epidemiológico y económico de la brucelosis en bovinos de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí – Ecuador**” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolqui 07 de septiembre de 2021

Firma

Agadir  
Paredes  
Galarza

Firmado digitalmente  
por Agadir Paredes  
Galarza  
Fecha: 2021.09.13  
10:48:00 -05'00'

---

**Paredes Galarza, Agadir Julian**

CC: 171459535-1

### **Dedicatoria**

*Mamae, tu esfuerzo es impresionante y tu amor para mi, es invaluable.*

*Papai, gracias por enseñarme tu profesionalismo y sabiduría en el ámbito ganadero nacional e internacional.*

*Bruna y Renata, gracias por su apoyo día a día en el transcurso de cada año a mi lado.*

*Esteban, mi gran amigo, hermano y socio, gracias por tu calidad humana y amistad desde hace 15 años.*

**Agadir Paredes Galarza.**

## **Agradecimientos**

Mis mas sinceros agradecimientos a:

Mis promotores, maestros Dr. Jorge Ron-Román, Dra. María Augusta Chavez y Dr.

Armando Reyna, por ser excelentes docentes, por compartir sus conocimientos, experiencia y sobre todo por su calidad humana.

Señor Arturo Lopez, por la predisposición y facilidades prestadas al momento de realizar el trabajo de investigación.

A todos los ganaderos, tecnicos y personal de apoyo en las fincas estudiadas en la parroquia San Pedro de Suma, Cantón El Carmen de la provincia de Manabi, por su excelente contribución y participación en todas las actividades de campo realizadas.

Al personal técnico de los laboratorios de Sanidad Animal y Biotecnología Animal por su gran aporte y apoyo en implementación de las técnicas diagnósticas serológicas.

Al Laboratorio Tier – Zentrum, por permitirme ser parte de su gran proyecto para mejorar la sanidad animal en el Ecuador y ser referentes a nivel nacional e internacional.

Por último, quiero agradecer a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE y a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA – I, por ser parte del inicio de mi formación académica y profesional.

***Agadir Paredes Galarza.***

## Índice de contenido

Carátula.....	1
Reporte Urkund.....	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de Autoría.....	4
Autorización de Publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos.....	7
Índice de contenido.....	8
Índice de tablas.....	13
Índice de figuras.....	15
Resumen.....	16
Abstract.....	17
Capítulo I.....	18
Introducción.....	18
Antecedentes.....	18
Justificación.....	20
Objetivos.....	21
<i>Objetivo general</i> .....	21
<i>Objetivos específicos</i> .....	21
Hipótesis.....	22

<i>Hipótesis nula</i> .....	22
<i>Hipótesis de investigación</i> .....	22
Capítulo II.....	23
Revisión de Literatura .....	23
La ganadería en el Ecuador .....	23
La ganadería en Manabí .....	23
La zoonosis en Ecuador .....	24
<i>Región uno, de alta prevalencia (1,97% al 10,62%)</i> .....	24
<i>Región dos de alta prevalencia (4,27% al 10,62%)</i> .....	24
<i>Región tres de baja prevalencia (1,3% al 2,6%)</i> .....	25
<i>Región cuatro de baja prevalencia</i> .....	25
<i>Región cinco indemne</i> .....	25
Importancia en salud pública, epidemiológica y económica .....	25
Brucelosis bovina .....	26
Generalidades y etiología .....	26
Reservorios animales y especies que afectan al humano .....	27
Patogenia y sintomatología .....	28
Vías de transmisión .....	30
Situación epidemiológica mundial y de América Latina.....	31
Situación de brucelosis bovina y humana en Ecuador .....	33
Pruebas diagnósticas.....	34
Rosa de Bengala Test (RBT) .....	35

Sero Aglutinación Lenta en Tubo (SAT) .....	36
Prueba Indirecta de Inmunoabsorción Ligada a una Enzima (ELISA-i).....	36
Medidas de prevención y control .....	37
Tipos de vacunas y protocolo empleados.....	37
<i>Vacuna Cepa 19</i> .....	38
<i>Vacuna RB51</i> .....	39
Capítulo III.....	40
Metodología .....	40
Trabajo de campo .....	40
<i>Lugar o zona de estudio</i> .....	40
<i>Ubicación geográfica</i> .....	40
Determinación del tamaño de la muestra .....	41
<i>Diseño muestral</i> .....	41
Diseño y aplicación de encuesta epidemiológica .....	43
Utilización de la aplicación EpiCollect .....	43
Recolección de información (Registros) .....	44
Obtención de muestras sanguíneas.....	44
<i>Materiales, reactivos y equipos</i> .....	44
Procedimiento .....	45
<i>Extracción de muestras de sangre</i> .....	45
Trabajo de laboratorio.....	45
Obtención de suero sanguíneo .....	45
<i>Materiales, reactivo y equipos</i> .....	45

<i>Procedimiento</i> .....	45
Prueba Rosa de Bengala (RBT).....	46
<i>Materiales, reactivos y equipos</i> .....	46
<i>Procedimiento para RBT</i> .....	46
<i>Interpretación de los resultados de RBT</i> .....	47
Prueba Sero Aglutinación en Tubo de Wright (SAT).....	47
<i>Materiales, reactivos y equipos</i> .....	47
<i>Procedimiento para SAT</i> .....	48
<i>SAT – rutina</i> .....	48
<i>SAT – titulación</i> .....	49
<i>Interpretación de resultados para SAT</i> .....	50
Resultado negativo.....	50
Resultado positivo.....	50
Interpretación global de los resultados de pruebas diagnósticas .....	51
Análisis de la información .....	52
Determinación de la prevalencia de la enfermedad .....	53
Determinación de los factores de riesgo .....	53
Capítulo IV .....	55
Resultados y Discusión .....	55
Georreferenciación .....	55
Estadística descriptiva de la muestra .....	56
<i>Distribución de animales muestreados por tamaño de UPA</i> .....	56
<i>Distribución de animales muestreados por sector, sexo y tipo de producción</i> .....	56
<i>Distribución de animales muestreados por sexo y UPA</i> .....	57

<i>Distribución de bovinos por edad</i> .....	58
<i>Distribución de animales por raza</i> .....	60
Prevalencia de enfermedades infectocontagiosas.....	61
<i>Brucelosis bovina</i> .....	61
Prevalencia general de la brucelosis bovina.....	61
Prevalencia de brucelosis por sector.....	63
Prevalencia de brucelosis por UPA, tamaño de UPA, y tipo de producción.....	64
Prevalencia de brucelosis por sexo. ....	67
Prevalencia de brucelosis por edad.....	67
Prevalencia de brucelosis por raza. ....	69
Factores de riesgo para el contagio de brucelosis bovina .....	69
<i>Datos generales de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPA)</i> .....	69
<i>Factores de riesgo para brucelosis bovina</i> .....	70
Manejo de biológicos para prevención de brucelosis bovina .....	73
Pérdidas económicas por brucelosis bovina.....	75
Capítulo V .....	77
Conclusiones y Recomendaciones .....	77
Conclusiones.....	77
Recomendaciones .....	77
Bibliografía .....	79

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b>	<i>Número de bovinos muestreados por finca.....</i>	<b>43</b>
<b>Tabla 2</b>	<i>Procedimiento para realizar la prueba SAT rutina .....</i>	<b>49</b>
<b>Tabla 3</b>	<i>Procedimiento para realizar la prueba SAT – titulación .....</i>	<b>50</b>
<b>Tabla 4</b>	<i>Relación entre el grado de translucidez, dilución del suero a investigar y Unidades Internacionales, según diluciones del suero control positivo.....</i>	<b>51</b>
<b>Tabla 5</b>	<i>Clasificación de las fincas según el tamaño del hato ganadero .....</i>	<b>52</b>
<b>Tabla 6</b>	<i>Tabla tetracórica en estudio de casos y controles. ....</i>	<b>54</b>
<b>Tabla 7</b>	<i>Número de muestras por tamaño de UPA .....</i>	<b>56</b>
<b>Tabla 8</b>	<i>Número de animales muestreados por reciento, tipo de producción y sexo.....</i>	<b>57</b>
<b>Tabla 9</b>	<i>Número de animales muestreados por UPA y sexo .....</i>	<b>58</b>
<b>Tabla 10</b>	<i>Número de hembras muestreadas por edad.....</i>	<b>59</b>
<b>Tabla 11</b>	<i>Número de hembras de acuerdo al número de partos .....</i>	<b>59</b>
<b>Tabla 12</b>	<i>Número de machos muestreados por edad .....</i>	<b>60</b>
<b>Tabla 13</b>	<i>Número de animales muestreados por tipo de raza .....</i>	<b>60</b>
<b>Tabla 14</b>	<i>Análisis general de brucelosis por tipo de prueba.....</i>	<b>61</b>
<b>Tabla 15</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por sector .....</i>	<b>63</b>
<b>Tabla 16</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por tamaño de UPA .....</i>	<b>65</b>
<b>Tabla 17</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de producción ganadera .....</i>	<b>65</b>
<b>Tabla 18</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por UPA .....</i>	<b>66</b>
<b>Tabla 19</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por sexo .....</i>	<b>67</b>
<b>Tabla 20</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de edad.....</i>	<b>68</b>
<b>Tabla 21</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de raza.....</i>	<b>69</b>
<b>Tabla 22</b>	<i>Número de animales de otras especies .....</i>	<b>70</b>
<b>Tabla 23</b>	<i>Factores de riesgo asociado a la seropositividad de animales a brucelosis bovina .....</i>	<b>72</b>

<b>Tabla 24</b> <i>Factores de riesgo asociado a la seropositividad de las UPAs a brucelosis bovina .....</i>	<i>73</i>
<b>Tabla 25</b> <i>Protocolo de inmunización y uso de biológicos contra brucelosis bovina .....</i>	<i>74</i>
<b>Tabla 26</b> <i>Pérdidas económicas anuales ligadas a brucelosis bovina .....</i>	<i>75</i>
<b>Tabla 27</b> <i>Pérdidas económicas de cada UPA por abortos en el periodo Mayo 2020 - Mayo 2021 .....</i>	<i>76</i>

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b>	<i>Mapa de distribución de la brucelosis bovina</i> .....	33
<b>Figura 2</b>	<i>Niveles de anticuerpos</i> .....	35
<b>Figura 3</b>	<i>Vacunas celulares contra Brucella</i> .....	38
<b>Figura 4</b>	<i>Ubicación geográfica de la parroquia San Pedro de Suma cantón El Carmen Provincia de Manabí – Ecuador.</i> .....	40
<b>Figura 5</b>	<i>Georreferenciación fincas ganaderas en San Pedro de Suma</i> .....	55
<b>Figura 6</b>	<i>Prevalencia de brucelosis bovina por sector</i> .....	64

## Resumen

La ganadería en el Ecuador es un pilar fundamental para la economía del país, conociéndolo tradicionalmente como un país ganadero. En la región costa, la provincia de Manabí, se destaca como la provincia número 1 en tenencia de bovinos, sin embargo, los planes sanitarios y manejo de enfermedades zoonóticas son muy escasos y poco conocidos en la región. El presente trabajo de investigación tuvo como objeto evaluar las pérdidas económicas y el sistema sanitario de los bovinos en la parroquia San Pedro de Suma ubicada en el Cantón El Carmen en la provincia de Manabí, mediante el diagnóstico serológico para detección de brucelosis bovina. Se caracterizó y evaluó 15 fincas ganaderas, de las cuales se obtuvo 125 muestras de sangre, para determinar la prevalencia de brucelosis bovina mediante las pruebas Rosa de Bengala y SAT-EDTA. La prevalencia de brucelosis bovina estimada fue de 4,8% y no se encontraron factores de riesgo asociados al contagio con esta enfermedad. Consecuentemente, se analizaron las pérdidas económicas generadas por brucelosis bovina en las fincas ganaderas, conociendo que existe pérdidas estimadas de \$1.9 - \$ 3.8 mil dólares anuales por cada bovino contagiado y manifieste signos clínicos relacionados a la enfermedad.

**Palabras clave:** *Diagnóstico serológico, Brucelosis bovina, Rosa de Bengala, SAT-EDTA.*

### **Abstract**

Livestock farming in Ecuador is a fundamental pillar for the country's economy, traditionally known as a livestock country. In the coastal region, the province of Manabí, stands out as the number 1 province in cattle possession, however, health plans and management of zoonotic diseases are very scarce and little known in the region. The purpose of this research was to evaluate the economic losses and the health system of cattle in the parish of San Pedro de Suma located in Canto El Carmen in the province of Manabí, through the serological diagnosis for detection of bovine brucellosis. We characterized and evaluated 15 livestock farms, of which 125 blood samples were obtained, to determine the prevalence of bovine brucellosis through the Rose of Bengal and SAT-EDTA tests. The estimated prevalence of bovine brucellosis was 4.8% and no risk factors associated with infection with this disease were found. Consequently, the economic losses generated by bovine brucellosis in livestock farms were analyzed, showing that there are estimated losses of \$1.9 - \$ 3.8 thousand dollars per year for each bovine infected and manifest clinical signs related to the disease.

**Key Words:** *Serological diagnostic, Bovine brucellosis, Rose Bengal Test, SAT-EDTA.*

## Capítulo I

### Introducción

#### Antecedentes

La ganadería en el Ecuador, ha sido tradicionalmente un sector clave para el desarrollo de la economía del sector pecuario del país. Con la introducción de nuevas tecnologías de mejoramiento de la producción pecuaria y métodos de diagnóstico de enfermedades infecto-contagiosas entre ellas la brucelosis bovina, el PIB nacional se incrementó en un 7,59% (BCE, 2019). Este porcentaje del incremento al PIB, fundamentalmente corresponde a una mejora en el estado sanitario y en la productividad de los animales.

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de carácter infecto-contagioso que provoca grandes pérdidas económicas en hatos ganaderos (OIE, 2016). Esta enfermedad es causada por un cocobacilo Gram-negativo, el cual sobrevive en las células del sistema inmune provocando infecciones crónicas en humanos y en el ganado bovino (Nicoletti, 1984; Poester et al., 2010; Ron-Román et al., 2014). La brucelosis bovina es causada por *Brucella abortus*. Esta enfermedad es considerada como una enfermedad zoonótica de alto impacto en salud pública y en la ganadería bovina a nivel mundial. Esta infección ocasiona grandes pérdidas económicas y restricciones en el comercio de productos de origen bovino como son principalmente leche y carne (Seleem et al., 2010). En el Ecuador, las pérdidas generadas por *Brucella abortus* se estiman en 5.5 millones de dólares anuales (AGROCALIDAD, 2016). Las pérdidas en bovinos, están relacionadas a problemas de infertilidad, abortos, nacimiento de terneros muertos y perdida en la producción láctea y cárnica (McDermott et al., 2013).

La brucelosis en bovinos, está asociada generalmente con problemas de abortos, reducción de fertilidad y reducción de producción lechera (Ficht, 2003). En humanos, las personas pueden contraer esta enfermedad mediante el contacto con animales infectados, por consumo de leche no pasteurizada y consumo de productos de origen animal contaminados (Corbel, 2006).

El diagnóstico de brucelosis bovina en laboratorio, se basa principalmente en métodos o pruebas indirectas. Las pruebas indirectas de diagnóstico de esta enfermedad buscan determinar la presencia de anticuerpos específicos (Ac) en el suero sanguíneo del animal infectado. Entre los métodos indirectos de diagnóstico se encuentran las pruebas de Aglutinación como son Rosa de Bengala (RBT), Prueba Suero Aglutinación en Tubo (SAT) y Prueba de Fijación del Complemento (FC). En cuanto a las pruebas Inmunoenzimáticas existe la Técnica Inmunoenzimática Indirecta (ELISA - i) y la Prueba de Fluorescencia Polarizada (FP) (Gall et al., 1998; Poester et al., 2010).

En el Ecuador, especialmente en las zonas rurales de la costa ecuatoriana la falta de control y manejo de programas sanitarios en los predios de producción de leche, carne o doble propósito ha generado la propagación de enfermedades de carácter zoonótico especialmente brucelosis bovina. De la misma forma, en la Provincia de Manabí, en la parroquia San Pedro de Suma, la ausencia de diagnóstico y escasa investigación sobre esta enfermedad, provoca importantes pérdidas económicas relacionadas con problemas reproductivos y productivos en la ganadería bovina (Parra & Tipanluisa, 2018).

## **Justificación**

La ganadería bovina cumple un papel de vital importancia dentro de la economía de los países dedicados a la producción agropecuaria. Esta actividad según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) tendrá un incremento exponencial en los próximos 30 años alrededor de un 70% (FAO, 2008).

En Ecuador, la ganadería de carne y leche se ha incrementado y expandido su frontera pecuaria de forma significativa. Desde el 2011 hasta 2014 el incremento anual de la población bovina fue del 3,3%. La región de la Sierra y la Amazonia Ecuatoriana registraron un incremento del 1,7% en producción lechera. En la región de la Costa Ecuatoriana, al contrario, se registró que representa el 18,5% de producción láctea del país (INEC, 2020). En la región de la Costa, la provincia de Manabí, se destaca por el potencial ganadero. Esta provincia, dispone exclusivamente de 766.774 hectáreas para uso de pastos y forrajes dedicados a ganadería bovina. El inventario bovino en esta provincia es de 896.476 bovinos, lo que representa el 17,5% de la producción pecuaria de origen bovino en el Ecuador (INEC, 2017).

En el Ecuador, AGROCALIDAD en el 2014, estableció a nivel nacional varios programas sanitarios para el monitoreo de la salud bovina y mejora de la producción ganadera. Estos programas están enfocados en mejorar la calidad de los sistemas sanitarios de producción como también para realizar un control eficiente de las diferentes enfermedades infecto-contagiosas especialmente las enfermedades de carácter zoonótico. El control de estas enfermedades en los hatos ganaderos se limita por la escasa o falta de información sobre el manejo de registros de sus propios animales (Parra & Tipanluisa, 2018). Para el caso específico de brucelosis bovina, existe un programa para el Diagnóstico, Control y Erradicación de esta

enfermedad. Este Programa lo ejecuta el organismo Oficial Sanitario que es AGROCALIDAD. Este organismo, maneja toda la información sobre diagnóstico, seguimiento y control de nuevos casos de la enfermedad dentro del país.

En la provincia de Manabí, la parroquia San Pedro de Suma, ha sido afectada por presencia de brucelosis en el ganado bovino, con una alta prevalencia del 11% en el sector (Parra & Tipanluisa, 2018). Se ha evidenciando la escasa información disponible sobre el diagnóstico de brucelosis bovina y consecuentemente la ausencia en establecer correctamente un programa de diagnóstico y control de esta enfermedad (Zambrano & Pérez, 2015). Por lo antes indicado, se hace necesario realizar investigaciones que se encuentren enmarcadas en el contexto epidemiológico, económico y factores de riesgo existentes en la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí.

## **Objetivos**

### ***Objetivo general***

Determinar la importancia epidemiológica y económica de la brucelosis bovina en fincas ganaderas de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen, provincia de Manabí.

### ***Objetivos específicos***

Determinar la prevalencia de brucelosis bovina utilizando las pruebas diagnósticas, Rosa de Bengala Test (RBT) y Sero Aglutinación lenta en tubo (SAT - EDTA).

Determinar la existencia de posibles factores de riesgo y pérdidas económicas a través de la aplicación de una encuesta epidemiológica en fincas.

Realizar un inventario de biológicos y protocolos utilizados para la inmunización de bovinos contra la brucelosis, mediante la aplicación de la encuesta epidemiológica a los ganaderos.

**Hipótesis*****Hipótesis nula***

La prevalencia de brucelosis bovina en las fincas ganaderas de la parroquia San Pedro de Suma del Cantón El Carmen de la Provincia de Manabí es nula.

***Hipótesis de investigación***

La prevalencia de brucelosis bovina en las fincas ganaderas de la parroquia San Pedro de Suma del Cantón El Carmen de la Provincia de Manabí es alta.

## Capítulo II

### Revisión de Literatura

#### La ganadería en el Ecuador

El sector de la ganadería ecuatoriana contempla un rol importante en la economía del país, representando el 23,8% del Producto Interno Bruto (PIB) que se produce en las actividades agropecuarias, siendo esta actividad, un sector clave para la economía del país. El hato ganadero del Ecuador es de alrededor de 4.306.244 millones de cabezas de ganado, que se mantienen en 1.998.473 hectáreas de pasto a nivel nacional (INEC, 2020).

La región Costa ecuatoriana, se encuentra en el segundo lugar a nivel nacional en el ámbito ganadero con una población bovina de 1.710.130 millones de ganado bovino (INEC, 2020). Con la introducción de nuevas tecnologías dentro del sector agropecuario, para métodos de diagnóstico de enfermedades infecto-contagiosas, la actividad ganadera ha contribuido en la participación e incremento del PIB en un 8% (INEC, 2020)

#### La ganadería en Manabí

Manabí es la provincia líder en el sector agropecuario con 19,40% de participación en el mercado bovino nacional. Esta provincia cuenta con 775.863 hectáreas destinadas a pastos cultivados y naturales destinadas a la producción bovina (Pino Zambrano, 2017), sin embargo, el deficiente manejo, control y prevención de enfermedades infecto – contagiosas de carácter crónico como brucelosis, ha generado problemas reproductivos para los ganaderos de la provincia (Mullo, 2019).

La actividad agropecuaria, específicamente la ganadería bovina se encuentra en la zona norte de la provincia. Las zonas con mayor actividad agropecuaria se encuentran ubicadas en los Cantones de Chone, Flavio Alfaro, Jama, Pedernales y

El Carmen. En estos Cantones debido a la disponibilidad de pasturas, existe un gran desarrollo en la producción ganadera, caracterizándose la producción lechera, carne y doble propósito (Acebo & Castillo, 2016), con una población existente de 921.823 cabezas de ganado vacuno, siendo la provincia con mayor número de cabezas de ganado a nivel nacional con el 22,7%. De igual manera, Manabí es considerada como la provincia con mayor nivel productivo lácteo en la Región costa y segunda en el Ecuador con el 11.7% (INEC, 2017).

### **La zoonosis en Ecuador**

En el Ecuador, el Ministerio de Salud Pública (MSP) estableció eventos de vigilancia epidemiológica de enfermedades zoonóticas como la brucelosis bovina. En Ecuador, la incidencia de casos de brucelosis, presenta un comportamiento a través del tiempo en forma regular y estable. Hasta la presente fecha no se han presentado brotes a nivel país (Ministerio de Salud Pública, 2019).

En el Ecuador, el Programa Nacional de Sanidad Animal en el año de 1978, clasificaron en base a la prevalencia de brucelosis bovina al país en 5 regiones epidemiológicas (MAG - SESA, 1999).

#### ***Región uno, de alta prevalencia (1,97% al 10,62%)***

En esta región, se encuentran las provincias del norte de la sierra ecuatoriana, conocida como la región de mayor producción láctea. Esta región está integrada por las provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo.

#### ***Región dos de alta prevalencia (4,27% al 10,62%)***

En esta región, se encuentran las provincias de la costa ecuatoriana, integradas por Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos, Manabí, Guayas, Santa Elena y El Oro.

***Región tres de baja prevalencia (1,3% al 2,6%)***

En esta región, se encuentran las provincias de la sierra central ecuatoriana, integradas por Bolívar, Cañar, Azuay y Loja.

***Región cuatro de baja prevalencia***

Se encuentran todas las provincias de la amazonia ecuatoriana. En esta región no existe información oficial sobre la prevalencia de la enfermedad, estimándose que el porcentaje es bajo.

***Región cinco indemne***

Esta región corresponde a las Islas Galápagos. Esta provincia fue declarada como indemne a brucelosis bovina en el año de 1997. En ese año en las islas Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana se realizó una serología y diagnóstico de brucelosis bovina a 507 animales. El resultado del diagnóstico utilizando la prueba de Rosa de Bengala (RBT) fue negativo.

**Importancia en salud pública, epidemiológica y económica**

La brucelosis bovina es un gran problema en Salud Pública por el riesgo de contagio en el ser humano. Existe un alto riesgo de contraer la enfermedad especialmente en aquellas personas que tienen relación laboral y contacto con bovinos como son los ganaderos, médicos veterinarios, operarios del campo, operarios de los centros de faenamiento, personal de laboratorio y en general personal que labora en el sector agropecuario (Castro et al., 2005). El riesgo de contagio se debe a que estas personas trabajan principalmente en la manipulación de tejidos, toma y obtención de muestras de sangre de animales infectados (Cárdenas, 2018; Castro et al., 2005; D'Anastasio et al., 2011).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) manifiesta que anualmente existen alrededor de 500 mil casos de brucelosis humana en el mundo, representando solo el 4% de los casos diagnosticados (Pappas et al., 2006).

Las pérdidas económicas ocasionadas por brucelosis bovina, varían en todos los países del mundo (Acha & Szyfres, 2001). Estas pérdidas se relacionan directamente con la existencia de prevalencia de brucelosis y a la especie animal a la que afecta. En Ecuador, se han reportado pérdidas económicas anuales de 5,5 millones de dólares por el incremento de abortos, mortalidad de terneros y baja producción láctea en animales con brucelosis (AGROCALIDAD, 2016)

### **Brucelosis bovina**

La brucelosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa de carácter zoonótico, causada por una bacteria que genera infecciones crónicas en los animales y en el ser humano (Godfroid et al., 2010). Actualmente, la brucelosis es la principal zoonosis de reporte obligatorio, gran impacto económico (Castro et al., 2005), y de distribución a nivel mundial causando por contacto entre animales y seres humanos (Acha & Szyfres, 2001). Esta enfermedad en el transcurso de los años ha adoptado varios nombres los cuales se conocen alrededor de todo el mundo. Entre los nombres más conocidos están la fiebre de Malta, fiebre ondulante, aborto contagiosos o aborto infeccioso (Godfroid et al., 2010) aborto enzoótico, aborto epizoótico y enfermedad de Bang (Center for Food Security & Public Health, 2009).

### **Generalidades y etiología**

La brucelosis es producida por una bacteria del género *Brucella*, que es un cocobacilo intracelular, Gram negativo. Esta bacteria es facultativa, no móvil, aerobio sin capsula y que tienen la capacidad de sobrevivir a las células del sistema inmunológico (D'Anastasio et al., 2011; Madkour, 2001). Los bovinos también tienen la capacidad de contagio por *Brucella melitensis* y *Brucella suis* cuando comparten las instalaciones con cabras, cerdos y ovejas infectadas con esta enfermedad. En

varios países se han observado que las infecciones causadas por *B. melitensis* son similares al causado por *B. abortus* (Acha & Szyfres, 2001).

Dentro del género *Brucella*, se encuentran 6 especies y 15 biotipos. *Brucella melitensis* con 3 biotipos, *Brucella abortus* con 7 biotipos, *Brucella suis* con 5 biotipos. *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* y *Brucella canis* no tienen biotipos. De este género es *Brucella abortus* la que afecta principalmente al ganado bovino (Corbel & Morgan, 1982).

### **Reservorios animales y especies que afectan al humano**

En el género *Brucella*, existen 3 especies principales que tienen la capacidad de infectar al ser humano, *Brucella abortus*, *Brucella suis* y *Brucella melitensis* (Díaz et al., 2011). Por esta razón a esta enfermedad se la conoce como una enfermedad médica asociada con una zoonosis, de baja notificación y relacionada directamente con la salud ocupacional en la población susceptible (Welburn et al., 2015).

*Brucella abortus* se encuentra también en búfalos, camélidos, cérvidos, caprinos y ovinos (Cvetnic et al., 2005). Sin embargo, ha sido aislada y existe la presencia de *Brucella abortus* en caballos y se han reportado la presencia de anticuerpos anti *Brucella abortus* en perros, burros y aves (Ducrottoy et al., 2014). Por esta razón esta enfermedad se ha convertido en un problema para las especies domésticas que conviven con el hombre en el ámbito agropecuario.

En los humanos, la transmisión de esta enfermedad se produce por vía ocular, olfatoria, por inhalación de áreas contaminadas, vía cutánea, por el contacto directo con sangre y orina de los animales infectados, vía digestiva y principalmente mediante el consumo de leche o productos lácteos no pasteurizados. Existe también un contagio inusual y raro por contacto directo entre persona a persona, debido a transfusiones sanguíneas, trasplante órganos y tejidos (De Figueiredo et al., 2015).

Frecuentemente, la brucelosis bovina en personas es confundida con otras enfermedades agudas de tipo infeccioso que son tratadas por medio de administración de antibióticos. Estos tratamientos generalmente enmascaran los síntomas propios de la enfermedad, provocando lesiones crónicas al ser humano (Roux, 1979).

### **Patogenia y sintomatología**

La brucelosis bovina pasa como una enfermedad desapercibida en los bovinos (Ragan, 2002). El único signo visible de esta enfermedad es el aborto que se produce generalmente en la primera gestación del animal. El aborto se presenta principalmente en el último tercio de la gestación de la vaca (Bowden, 1996).

*Brucella* spp. tiene por lo menos dos etapas de infección en los animales. La primera etapa de infección denominada inicial donde su número aumenta y la segunda etapa denominada latente donde la bacteria asegura su supervivencia (Halling & Boyle, 2002). La infección inicial se localiza en los ganglios linfáticos periféricos de ingreso de la bacteria. Estos ganglios son, el ganglio conjuntival, nasofaríngeo, genital o incluso la piel intacta. Posteriormente, se disemina por todos los tejidos del huésped y se prolifera en el tejido linfoide lo que ocasiona una infección generalizada (Godfroid et al., 2010).

Las bacterias que ingresan en el hospedador animal, por cualquiera de las vías de ingreso descritas, son fagocitadas por células polimorfo nucleares o células mononucleares. Posteriormente, luego de ser fagocitadas, las bacterias son llevadas hacia un ganglio linfático donde comienzan a multiplicarse intracelularmente dentro del retículo endoplasmático (Gorvel & Moreno, 2002). Dos semanas después de la infección, se puede comprobar si existe bacteriemia, y en esta etapa es posible aislar la *Brucella* spp del torrente sanguíneo. Después de esta bacteriemia, la

bacteria se traslada por medio de la linfa y la sangre a los diferentes órganos del cuerpo (Gorvel & Moreno, 2002).

*Brucella abortus* tiene preferencia por los órganos sexuales masculinos, femeninos, glándulas sexuales accesorias, glándula mamaria, nódulos linfáticos y en menor grado por las cápsulas articulares y bolsas sinoviales. En hembras gestantes, gracias a la presencia de un polialcohol denominado erythritol que es producido por el feto se favorece el crecimiento de la bacteria en la placenta y en los líquidos fetales de la hembra (Acha & Szyfres, 2001). En vacas no gestantes, la bacteria se localiza en los ganglios retromamarios que cuando inicia el periodo de gestación son los encargados de invadir el útero, donde posteriormente se multiplicaran (Olsen et al., 2010).

La sintomatología de la brucelosis es usualmente asintomática en animales jóvenes y no preñados. En animales preñados, el principal síntoma es el aborto (Yamamoto et al., 2008). La hembra infectada presenta pocos signos clínicos que puedan determinar la enfermedad. Los signos clínicos más comunes son abortos, metritis, infecciones uterinas y en general problemas reproductivos como baja tasa de concepción. En los machos infectados, se observa orquitis (inflamación de los testículos) y generalmente artritis, debido a que ocasiones la bacterias se depositan en las articulaciones (OIE, 2018). Clínicamente la brucelosis bovina se caracteriza por la presencia de problemas reproductivos (Ficht, 2003). En vacas gestantes el aborto ocurre generalmente en el ultimo tercio de la gestación, ocurriendo también el nacimiento de terneros de forma prematura. El signo clínico más importante de la infección por *Brucella abortus* es el aborto especialmente en la primera gestación del animal. En estos bovinos abortados, ocasionalmente la enfermedad induce a que las vacas infectadas aborten una sola vez (Godfroid et al., 2010).

Ocasionalmente, cuando existen partos, la presencia de mortinatos o el nacimiento de animales con infección congénita no es frecuente. Las hembras no preñadas no presentan signos clínicos. Se estima que esta infección ocasiona una pérdida del 20 al 25% de la producción lechera (Acha & Szyfres, 2001).

### **Vías de transmisión**

La forma de transmisión de esta bacteria entre los animales se da por algunas vías. La más importante y de rápido ingreso al organismo es la vía oral. El ingreso de *Brucella abortus* en los animales ocurre por el consumo de pastos y agua contaminada con la bacteria (OIE, 2018; Roux, 1979).

La vía de infección de esta enfermedad también está basada en el instinto materno de las vacas recién paridas. Estas vacas tienen el instinto de lamer las membranas fetales, los fetos abortados y animales recién nacidos. De igual manera, al momento encontrarse con otras vacas, estas tienden a lamer los órganos sexuales donde existe liberación a través de la vulva de loquios y secreciones vaginales pos parto. Estas secreciones vaginales de los bovinos infectados es la principal fuente, foco de infección y amplia diseminación del microorganismo causante de brucelosis bovina (Biberstein & Chung, 1994). Otra importante vía de transmisión de la enfermedad es por la vía sexual mediante el coito entre los animales (Acha & Szyfres, 2001). El riesgo ocurre al momento de tener la presencia del toro enfermo y el semen contaminado (Acha & Szyfres, 2001). Un riesgo menor de infección se presenta al momento de hacer uso de biotecnologías reproductivas como la Inseminación Artificial (IA), Transferencia de Embriones y Fertilización in Vitro (FIV) (OIE, 2018).

Una importante vía de transmisión de la enfermedad es vía vertical que ocurre en terneros recién nacidos como resultado de la infección uterina (Plommet et al., 1973). La transmisión congénita es la de mayor importancia epidemiológica,

estimando que los casos de infección latentes ocurren en un 5% de la progenie de vacas infectadas (Corbel, 2006). Otra importante vía de contagio es la transmisión horizontal, ocurre principalmente por la ingestión del calostro contaminado con la bacteria (Plommet et al., 1973). En el ser humano, la vía de transmisión de la enfermedad se genera mediante dos vías de transmisión, la primera es por consumo de leche cruda y quesos frescos sin antes tener un proceso de pasteurización (Poester et al., 2010). La segunda vía de contagio, ocurre por contacto con descargas, fluidos o loquios de origen reproductivo de animales enfermos. Esta vía de contagio, sucede cuando personas vinculadas a la ganadería bovina realiza actividades de manejo del hato ganadero como son principalmente, ayuda en partos distócicos, I.A. y chequeo ginecológico (OIE, 2018).

### **Situación epidemiológica mundial y de América Latina**

La brucelosis bovina se encuentra en todo el mundo, causando pérdidas productivas con severos impactos financieros para los ganaderos (Gil & Samartino, 2001). El principal factor de riesgo para la introducción y diseminación de la brucelosis en los hatos ganaderos están directamente relacionados con la ausencia de bioseguridad (Rhyan et al., 2013).

La distribución de los diferentes biovares tiene variaciones geográficas. El biovar 1 es universal y es el predominante de los 7 diferentes biovares que se presentan en el mundo. En América Latina se han encontrado los biovares 1, 2, 3, 4 y 6, y más del 80% de las cepas corresponden al biovar 1. En los Estados Unidos se han aislado los biovares 1, 2 y 4. En África Oriental y China predomina el biovar 3 (Bernhard, 1982). El biovar 5 se encuentra en bovinos de Alemania y Gran Bretaña (Bernhard, 1982). En América del Sur, estudios recientes han identificado varios biovares, por ejemplo en Brasil se han encontrado los biovares 1, 2 y 3 (Minharro et al., 2013), mientras que en Ecuador, se han encontrado y reportado el biovar 1 y 2

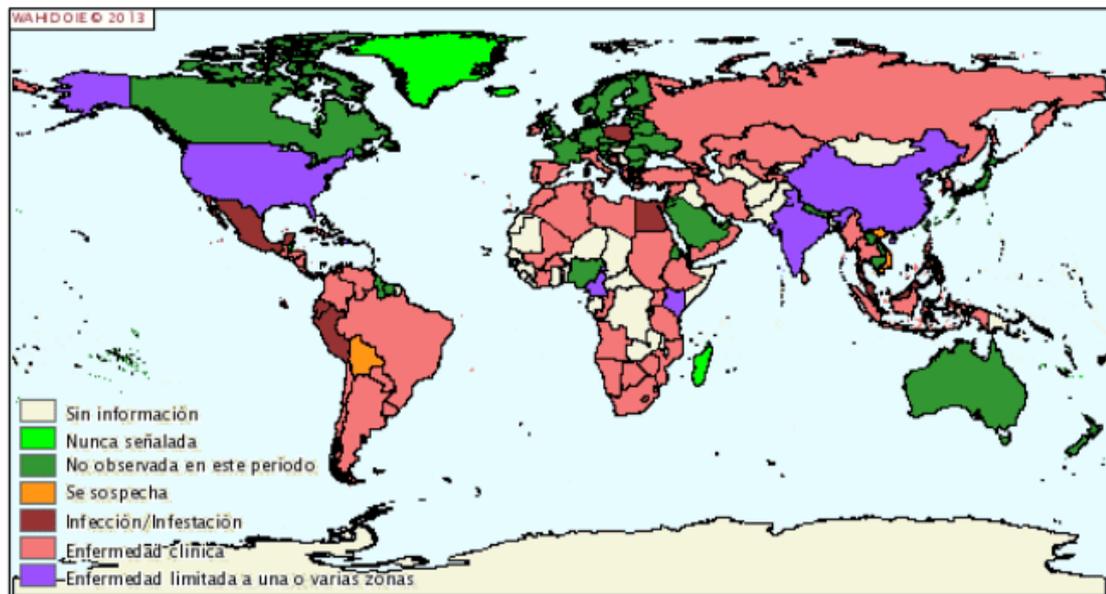
(Rodríguez-Hidalgo et al., 2015). En Brasil y Colombia surgió un problema de contagio por *Brucella suis* biovar 1 que apareció en bovinos, siendo la glándula mamaria el sitio de localización preferido por este patógeno (Herrán et al., 2020; Pacheco et al., 2017).

Los mayores niveles de incidencia de brucelosis bovina, se encuentran en Oriente Medio, la región Mediterránea, África Subsahariana, China, India y en América Latina, principalmente en México y Perú. Actualmente, se cree que varios países de Europa Occidental y del Norte, así como Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda son considerados libre de brucelosis bovina (OIE, 2018).

En América Latina, en el año del 2009 se reportaron grandes pérdidas económicas equivalentes a alrededor de 600 millones de dólares (Acha & Szyfres, 2001). Estas pérdidas se atribuyen a la disminución de la producción láctea, incremento de abortos y pérdida de animales de reemplazo (Seleem et al., 2010). En el Ecuador, en el año 2009 se reportó pérdidas económicas que ascienden a los 5,5 millones de dólares en el sector ganadero (AGROCALIDAD, 2016).

**Figura 1**

*Mapa de distribución de la brucelosis bovina*



**Fuente:** (WAHID, 2019).

### **Situación de brucelosis bovina y humana en Ecuador**

La brucelosis bovina apareció como un problema sanitario desde el año 1934 debido a los casos de brucelosis humana que habían aparecido en esa época, En el año de 1947 el Instituto de Investigaciones Veterinarias del Litoral (IVE) informaron de los primeros casos positivos a *Brucella abortus* diagnosticados en bovinos originarios de las provincias de Guayas, Los Ríos y El Oro (Rivas, 1981). En el año de 1952, se logra aislar por primera vez a *Brucella abortus* en muestras de secreciones vaginales de una vaca abortada, procedente de una finca de la provincia de Cotopaxi (Urigen & Gomez, 1952).

La Dirección de Ganadería del Ecuador, en el año de 1954 realizó un diagnóstico de brucelosis bovina en 14.600 bovinos de los cuales 11.684 bovinos eran de la región Sierra y 2.916 bovinos fueron de la región Costa. Los resultados

obtenidos fueron del 15,43% de animales positivos y 12,10% de animales sospechosos (Szyfres et al., 1959).

El Programa Nacional de Sanidad Animal (PNSA) en los años 1978 y 1979, con el fin de investigar la brucelosis bovina, realizaron una encuesta serológica en la población bovina de la región Sierra y Costa del Ecuador. En ese año fueron analizadas un total de 15.471 muestras sanguíneas con la prueba de suero aglutinación rápida en placa. El resultado obtenido fue una prevalencia que osciló en un rango de 1,3% al 10,6%. La prevalencia encontrada a nivel nacional fue del 6,0%. Con los datos obtenidos en este estudio, se pudo diferenciar y categorizar al Ecuador en cinco regiones epidemiológicas de brucelosis bovina (MAG - SESA, 1999).

### **Pruebas diagnósticas**

Para determinar serológicamente la presencia de brucelosis bovina es necesario utilizar varias pruebas screening indirectas de diagnóstico autorizadas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Estas pruebas son: ELISA Indirecto, Rosa de Bengala (RBT), Sero-Aglutinación Lenta en Tubo (SAT), Prueba de Anillo en Leche o Milk Ring Test (MRT) y también pruebas confirmatorias inmunoenzimáticas como son ELISA Competitivo y Fijación de Complemento (FC) (OIE, 2018). Para realizar este control o monitoreo serológico se usan las pruebas detalladas dentro de sus programas de control y vigilancia para brucelosis bovina (Asfaw & Mamo, 2015; Godfroid et al., 2010).

Actualmente, para determinar brucelosis bovina, son utilizadas con mayor frecuencia las pruebas serológicas indirectas. Este tipo de pruebas, son aquellas que tienen la capacidad de detectar anticuerpos anti *Brucella* en suero sanguíneo y leche. Sin embargo, el resultado del diagnóstico con este tipo de pruebas es de tipo presuntivo de la enfermedad (Romero & Lopez, 1999)

Para obtener un diagnóstico más seguro, es necesario evidenciar la presencia de las bacterias con ayuda de un examen bacteriológico o con biología molecular, detectando el ADN con pruebas directas, para realizar aislamientos de la bacteria que se encuentran en tejidos de ganglios linfático, hígado o bazo del animal (Castro et al., 2005; Minharro et al., 2013).

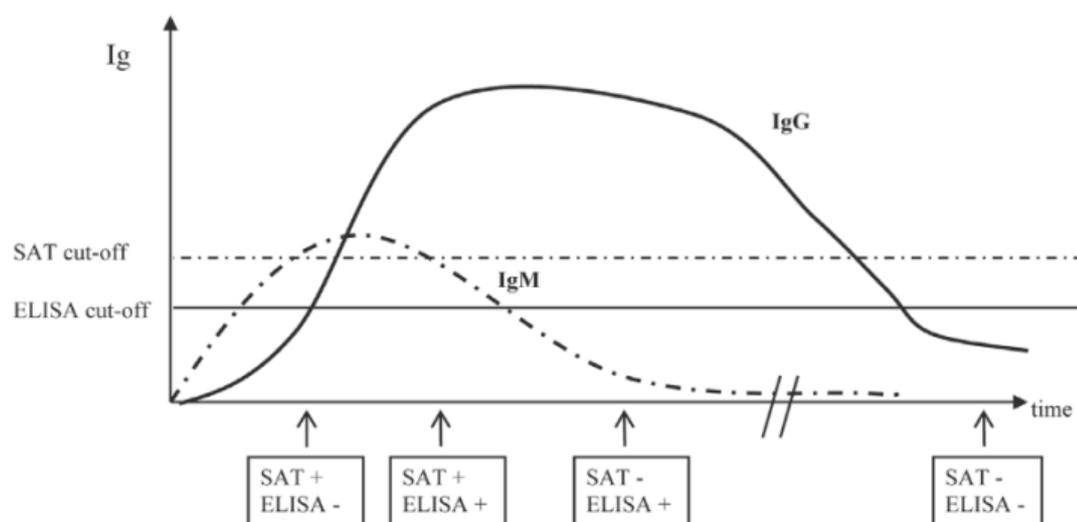
### Rosa de Bengala Test (RBT)

Rosa de Bengala Test, es una prueba screening, rápida, económica y con amplia difusión en el mundo. Esta prueba es utilizada en todos los países que tienen programas de control y vigilancia epidemiológica, el empleo de esta prueba se realiza para el diagnóstico y determinación de animales enfermos de los animales sanos (OIE, 2018).

Esta prueba se fundamenta en la aglutinación entre el antígeno (suspensión de 8,5% de Cepa 99 de *B. abortus* inactivada por calor, ajustada en un tampón de pH 3,5) y el suero sanguíneo del bovino que se va a diagnosticar (Nielsen, 2002).

### Figura 2

*Niveles de anticuerpos*



**Fuente:** (Godfroid et al., 2010)

La sensibilidad de la prueba es del 87% y una especificidad del 97,8% (Godfroid et al., 2010). Por este motivo es necesario utilizar pruebas confirmatorias y/o pruebas Gold estándar para disminuir los casos de falsos positivos para esta enfermedad (Kaltungo et al., 2014).

### **Sero Aglutinación Lenta en Tubo (SAT)**

Es una prueba complementaria para la detección de la brucelosis, visualizando de forma semi-cuantitativa la presencia de anticuerpos IgM en el suero de cada animal (Godfroid et al., 2010). La sensibilidad de la prueba es menor que RBT con un valor de 81,5% y su especificidad es mayor a RBT con 98,9% (Godfroid et al., 2010).

Es una prueba que también tiene como fundamento la aglutinación entre el antígeno (suspensión de Cepa 1119-3 de *B. abortus* inactivada por calor y fenol al 0,5%, contenida en un tampón de fenol al 0,5% con un pH de 7,4) con diluciones crecientes del suero sanguíneo a reacción de esta prueba es lenta ya que requiere de un periodo de incubación, la técnica se puede realizar en tubo o en microplacas, conocidas como MAT (Mircoagglutination Test) por sus siglas en ingles (Ron, 2003).

Es una prueba estandarizada que ha demostrado su eficacia en algunos países ahora declarados oficialmente libre de brucelosis (Emmerzaal et al., 2002).

### **Prueba Indirecta de Inmunoabsorción Ligada a una Enzima (ELISA-i)**

El ELISA indirecto es una prueba para el diagnóstico de anticuerpos contra brucelosis bovina. Esta prueba se fundamenta en la detección de anticuerpos (Ac) de *Brucella abortus* que fueron ligados por un anticuerpo secundario marcado por una enzima y con el antígeno fijado a una fase sólida de poliestireno. Generalmente a la placa se encuentra fijados los antígenos (Ag) de *Brucella*, provenientes de la cepa 99 o 1119-3 de *Brucella abortus* y de la cepa 16M de *Brucella melitensis* (OIE, 2018).

El ELISA-i es específico para detección de IgG del tipo 1, arrojando resultados casi equivalentes a los obtenidos en la prueba de fijación de complemento (CFT) (Ron, 2003). Esta prueba puede ser utilizada en muestras de suero sanguíneo y leche (OIE, 2018). El ELISA-i no tiene la capacidad de diferenciar entre anticuerpos vacúnales y anticuerpos infecciosos presentes en el bovino (Gall et al., 1998).

### **Medidas de prevención y control**

La principal medida de prevención y control de brucelosis bovina, es la eliminación de los animales enfermos seguido de una correcta y total desinfección de los espacios y conglomerados donde se encuentran animales (Quinn et al., 2011; Seleem et al., 2010) De igual manera, es de mucha ayuda la adecuada implementación de planes sanitarios o vacúnales en cada hato lechero dependiendo de la situación epidemiológica del sector en donde se ubica los animales (Quinn et al., 2011). Los programas de control y erradicación de esta enfermedad, contemplan necesariamente la implementación de programas sanitarios y vigilancia epidemiológica.

Este tipo de programas son los encargados de realizar el monitoreo serológico, vacunación de los animales negativos y descarte de animales positivos. El objetivo de estas acciones, es evitar focos infecciosos para evitar el contagio entre bovinos susceptibles. Igualmente este tipo de programas generan la toma de conciencia sanitaria y de higiene para que las personas que trabajan con animales tomen en cuenta las medidas de protección y de bioseguridad (OIE, 2018).

### **Tipos de vacunas y protocolo empleados**

Para el control de la brucelosis bovina, es necesaria la vacunación en áreas con alta prevalencia de la enfermedad (Acha & Szyfres, 2001). En Ecuador, el mercado farmacéutico ofrece dos tipos de vacunas para la inmunización contra

brucelosis bovina, estos dos tipos de vacuna son la vacuna Cepa 19 y la vacuna RB 51, las cuales son vacunas oficialmente aprobadas en todo el mundo para el control y prevención de brucelosis bovina (Dorneles et al., 2015).

### Figura 3

#### *Vacunas celulares contra Brucella*

<b>Tipo</b>	<b>Cepa</b>	<b>Protección</b>
<b>Vacunas vivas atenuadas aglutinógenas</b>	<i>B. abortus</i> S19 (S)	Bovinos
	<i>B. melitensis</i> Rev.1 (S)	Pequeños rumiantes
<b>Vacunas vivas atenuadas no aglutinógenas</b>	<i>B. suis</i> S2 (S)	Bovinos, pequeños rumiantes, cerdos
<b>Vacunas inactivadas</b>	<i>B. abortus</i> RB51 (R)	Bovinos
	<i>B. melitensis</i> H38 (S)	Pequeños rumiantes
	<i>B. abortus</i> 45/20 (R)	Bovinos

(S): cepa lisa  
(R): cepa rugosa

**Fuente:** (Godfroid et al., 2010)

#### **Vacuna Cepa 19**

La vacuna Cepa 19, es la más utilizada para prevención de la brucelosis bovina, fue descubierta por Buck en 1930, es una vacuna viva atenuada aglutinógena (Nicoletti, 1984; Schurig et al., 1991). La vacuna contiene una cepa lisa que es *Brucella abortus* S19 o B19, atenuada naturalmente, virulenta, con origen de *Brucella abortus* biovar 1 (Dorneles et al., 2015). Esta cepa, genera una infección pasiva, lo que provoca una imitación de la infección natural causada por cepas silvestres. Esta vacuna genera respuestas serológicas, las cuales no se pueden diferenciar entre anticuerpos vacúnales o anticuerpos causados por infección

(Corner & Alton, 1981). La adecuada inmunización confiere una protección contra abortos causados, *Brucella abortus* o *Brucella melitensis* (OIE, 2018).

El protocolo empleado en los hatos ganaderos es la inmunización del animal con Cepa 19 con una dosis única por vía subcutánea de  $5 - 8 \times 10^{10}$  microorganismos viables en un volumen de 2 ml. (OIE, 2018). Para la primera vacunación en terneras la edad ideal es de 3 a 8 meses. Con la aplicación correcta de este esquema vacunal se puede lograr que el 90% de los animales vacunados sean sero-negativos pasado los 9 meses después de su aplicación (Casas, 2008).

### **Vacuna RB51**

La vacuna RB51, es una vacuna viva atenuada no aglutinógena desarrollada por Shuring en el año de 1980 (Halling & Boyle, 2002). Esta vacuna contiene una cepa mutante que se origina a partir de *Brucella abortus* 2308 biovar 1 (Schurig et al., 1991). Al ser una cepa rugosa, no posee la cadena O de su Lipopolisacárido (LPS) por lo que no induce anticuerpos detectables cuando se diagnostica brucelosis utilizando las técnicas serológicas indirectas (Schurig et al., 2002). Esta vacuna no presenta, o son escasos los problemas de inducción de abortos, sin embargo, existen reportes de casos de abortos en vacas y eliminación de la cepa vacunal en la leche (Uzal et al., 2000).

El protocolo empleado para el uso de esta vacuna en los hatos ganaderos es la inmunización del animal con RB51 con una dosis de forma subcutánea de  $1$  a  $3,4 \times 10^{10}$  microorganismos (Olsen & Stoffregen, 2005), viables en un volumen de 2 ml y con una revacunación a los 12 meses para generar el efecto de memoria y aumentar la inmunidad contra la enfermedad (Casas, 2008).

## Capítulo III

### Metodología

#### Trabajo de campo

##### *Lugar o zona de estudio*

Para la presente investigación, la zona para el trabajo de campo fueron 15 hatos ganaderos del Cantón El Carmen de la parroquia San Pedro de Suma, provincia de Manabí, Ecuador.

#### Figura 4

*Ubicación geográfica de la parroquia San Pedro de Suma cantón El Carmen  
Provincia de Manabí – Ecuador.*



Fuente: (Google Earth, 2021)

##### *Ubicación geográfica*

Las coordenadas geográficas del lugar donde se desarrollará la fase de campo son:

- **Longitud** : 79° 30´ 57.2´´ W
- **Latitud** : 0° 13´ 18.3´´ S

- **Altitud:** 120 m.s.n.m.

### **Determinación del tamaño de la muestra**

#### ***Diseño muestral***

Se realizó una encuesta previa con ganaderos de la zona de San Pedro de Suma, con la finalidad de conocer los problemas sanitarios que presentan los bovinos en la zona de estudio. Adicionalmente, se conoció por medio de entrevista efectuada durante el diseño de este proyecto al Sr. Arturo López socio de la asociación de ganaderos de El Carmen, que la cantidad de bovinos en la zona es de 3.000 animales.

De los 3.000 animales se seleccionó un total de 1.256, ya que para esta investigación se define como población muestral a todos los bovinos que tengan más de un año de edad para evitar sesgos en el resultado serológicos ocasionados por inmunización pasiva o activa. Además, los bovinos fueron provenientes de hatos ganaderos que tengan producción bovina y cuenten con exámenes serológicos para detección de brucelosis bovina.

Para el cálculo del tamaño muestral se utilizó la siguiente formula estadística (Thrusfield, 2007).

$$n = \frac{z^2 \times p \times (1 - p)}{d^2}$$

Donde:

**n:** Número de muestras.

**z:** Valor del intervalo de confianza.

**p:** Frecuencia esperada del factor a estudiar.

**d:** precisión absoluta del estudio.

Se corrigió el tamaño de la muestra en función del número de bovinos presentes en la parroquia San Pedro de Suma en el cantón El Carmen, provincia de Manabí.

$$n_0 = \frac{N \times n}{N + n}$$

Donde:

**N:** Número total de animales en la parroquia San Pedro de Suma.

**n:** Número de muestras obtenidas con la formula anterior.

**n0:** Número final de muestras corregido.

Remplazando los valores en las formulas se obtienen los siguientes resultados  
**z** = 1,96 (95%).

**p** = 0,1 (porcentaje de prevalencia de brucelosis esperado en la zona de estudio.)

**d** = 0,05 (precisión absoluta de la investigación del 95%).

$$n = \frac{(1,96)^2 \times 0,1 \times (1 - 0,1)}{(0,05)^2} = 138,29$$

$$n_0 = \frac{1256 \times 138,29}{1256 + 138,29} = 124,57 = 125 \text{ animales}$$

El muestreo de bovinos se efectuó en función a la base de datos disponible en la Asc. de ganaderos de la parroquia San Pedro de Suma, en la cual se indicó la existencia de 15 fincas, con un número total aproximado de 1.256 bovinos. Para garantizar la confiabilidad de los resultados (prevalencia a nivel de finca y animales; así como los factores de riesgo) se recolectaron muestras de sangre de bovinos en cada una de las fincas existentes en la parroquia. El muestreo de los bovinos fue al azar, considerando el único factor excluidor la edad (superior a 3 meses). En la

Tabla 1 se presenta la distribución de los bovinos existentes y a ser muestreados en las fincas de la zona de estudio.

**Tabla 1**

*Número de bovinos muestreados por finca*

Nº finca	Nº animales existentes	Peso de finca	Nº animales muestreados
1	133	11%	4
2	44	4%	3
3	20	2%	6
4	46	4%	12
5	175	14%	16
6	113	9%	2
7	18	1%	5
8	55	4%	2
9	171	14%	5
10	84	7%	13
11	49	4%	14
12	148	12%	1
13	34	3%	16
14	12	1%	8
15	154	12%	18
Total	1256	100%	125

### **Diseño y aplicación de encuesta epidemiológica**

La recopilación de los datos se llevó a cabo por medio de una encuesta epidemiológica a cada ganadero, con una duración aproximada de 30 minutos. La encuesta fue diseñada sobre las características de la finca y del hato bovino: uso del suelo; información de los ganaderos; características de cada sistema ganadero; composición sanitaria del hato bovino; composición reproductiva del hato bovino, pérdidas económicas por abortos y manejo de biológicos.

### **Utilización de la aplicación EpiCollect**

Todos los datos que se obtuvieron mediante esta aplicación móvil, podrán ser visualizados, cartografiados y filtrados en la matriz web del proyecto “BruTryp”, utilizando Google Earth, Google Maps, entre otros. De igual manera, todos los datos

recopilados podrán ser solicitados, visualizados y filtrados desde el sitio web del proyecto, directamente en un teléfono celular mediante uso de Google Maps.

### **Recolección de información (Registros)**

Se realizó un registro de muestreo con la información zootécnica de cada animal: datos generales, aspectos productivos y reproductivos y vacunación, el cual se llenó en el momento de la toma de muestras sanguíneas.

### **Obtención de muestras sanguíneas**

#### ***Materiales, reactivos y equipos***

- Botas de caucho
- Overol
- Registro de muestreo
- Encuesta epidemiológica
- Encuesta económica
- Etiquetas
- Tubos vacutainer, tapa roja (sin anticoagulante)
- Tubos vacutainer, tapa lila (con anticoagulante)
- Agujas vacutainer N° 21 G
- Gradilla para tubos
- Guantes de látex desechables
- Termómetro Digital
- Capuchón vacutainer (soporte de aguja)
- Frasco para deposición de material corto punzante
- Fundas de basura
- Papel Higiénico
- Cooler de espuma Flex
- Cinta de embalaje y maskin

## **Procedimiento**

### ***Extracción de muestras de sangre***

- Se limpio la base de la cola del bovino, utilizando papel.
- Se realizo la punción en la vena ano caudal mediante aguja calibre 21 G.
- Se recolecto 10 ml de sangre, en un tubo al vacío sin EDTA, con su respectiva rotulación.

### **Trabajo de laboratorio**

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Sanidad Animal de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria (IASA I) de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en el cantón Rumiñahui de la provincia de Pichincha.

### **Obtención de suero sanguíneo**

#### ***Materiales, reactivo y equipos***

- Mandil
- Guantes de nitrilo
- Tubos eppendorf
- Gradillas
- Micropipeta con rango de 10 a 100 ul
- Centrifuga
- Vortex
- Refrigeradora

### ***Procedimiento***

- Para obtención de suero sanguíneo, las muestras de sangre sin EDTA, se centrifugaron durante 5 minutos a 5.000 rpm.
- Después, se extrajo el suero, colocándolo en los tubos plásticos para ser etiquetados correctamente y conservados a -20°C.

## **Prueba Rosa de Bengala (RBT)**

### ***Materiales, reactivos y equipos***

- Placa de vidrio
- Micropipeta con rango de 10 a 100  $\mu$ l
- Palillo de dientes
- Timer
- Vortex
- Centrifuga
- Hoja de registro para RBT
- Suero sanguíneo bovino
- Antígeno para RBT

### ***Procedimiento para RBT***

- En primer lugar, el antígeno y sueros, se colocaron a temperatura ambiente, por lo menos 30 minutos antes de ser usados.
- Se colocaron las muestras de suero sanguíneo en las gradillas.
- Se colocó 30  $\mu$ l de control positivo (suero) en el primer cuadrante de la placa y control negativo (suero) abajo del control positivo.
- Luego se añadió 30  $\mu$ l de las muestras de suero, en los cuadrantes restantes de las placas.
- Inmediatamente se colocó una gota del antígeno para RBT, a lado de cada muestra de suero.
- Se homogenizó el suero y el antígeno, mediante palillos individuales para cada muestra, formando un ovalo.
- Con la placa de vidrio completa, se realizó movimientos ondulares de izquierda a derecha durante 4 minutos.

- Se procedió a interpretar los resultados mediante la observación de aglutinación en placa, que se efectúa con ayuda de una lámpara de luz blanca.

### ***Interpretación de los resultados de RBT***

Los distintos grados de aglutinación en placa, estarán determinados, según los siguientes criterios: negatividad (ausencia de anticuerpos), positividad (presencia de anticuerpos), siendo determinados por la ausencia o presencia de grados de aglutinación (Ron, 2003).

**Negativo:** sin aglutinación, ni formación de un borde color rosa.

- +**: presencia de aglutinación final y formación de un borde rosado poco visible.
- ++**: aglutinación final y formación de un borde fino.
- +++**: aglutinación gruesa y formación de un borde definido.
- ++++**: aglutinación gruesa, formación de un borde bien definido y aclaramiento de la muestra.

### **Prueba Sero Aglutinación en Tubo de Wright (SAT)**

#### ***Materiales, reactivos y equipos***

- Estufa
- Placas de micro titulación
- Antígeno SAT (Antígeno para el diagnóstico serológico de brucelosis, por aglutinación lenta en tubo, Sero – Aglutinación de Wright)
- Cloruro de sodio
- Fenol
- EDTA.
- Tampón SAT
- Cloruro de sodio 0,85% (w/v) (8,5g/l)
- Fenol 0,5% (w/v) (5g/l)

- EDTA 5M (1.8612 g/l)
- Agua destilada (Ajustar pH a 7,2)
- Solución de Antígeno
- Concentración final del Ag 1/17,5 en la cúpula. (T – SAT + Suero + T-Ag)
- Concentración del Ag en el T-Ag 1/8,75. (1 ml Ag + 7,75 ml T-SAT)

### ***Procedimiento para SAT***

La prueba se dividió en dos fases: La primera como SAT de rutina, que ayudo a detectar anticuerpos (IgM) contra cepas lisas de *Brucella*, y la segunda SAT de titulación, que permitió estimar en Unidades Internacionales de aglutinación (UI), la concentración de anticuerpos (IgM) presentes en cada uno de los sueros estudiados (Ron, 2003).

### ***SAT – rutina***

Se efectuó una serie de diluciones de todos los sueros de bovinos reportados como positivos y negativos a brucelosis mediante la prueba RBT, junto con sueros control (negativo y positivo).

Se colocó 168 µl de T- SAT en el primer pocillo y 100 µl en los pocillos 2 y 3, a continuación, se añadió 32 µl de suero a investigar en el pocillo 1. Luego se mezcló el contenido del pocillo 1 (dilución 1/12,5) y 100 µl de esta mezcla, fueron colocados en el pocillo 2, en donde se obtuvo la siguiente dilución (1/25). Repetimos el paso del pocillo 2 al 3, en el que se obtuvo la siguiente dilución (1/50). Finalmente se adicionó 100 µl de T-Ag a cada uno de los pocillos (Ron, 2003)

**Tabla 2***Procedimiento para realizar la prueba SAT rutina*

Pasos	Cúpulas		
	1(*)	2(*)	3(*)
T- SAT (**)	168	100	100
Suero a investigar	32		
Paso de dilución	  		
T - Ag (**)	100	100	100
Dilución final	1/12,5	1/25	1/50

**Nota. (\*)**: Diluciones empleadas en la prueba de rutina**Fuente:** (Ron, 2003).**SAT – titulación**

Se efectuó una serie de diluciones de todos los sueros calificados como altamente positivos hasta la tercera dilución en la prueba rutina, junto con sueros controles (positivos y negativos).

Sobre una placa de micro aglutinación se colocó 168 µl de T – SAT en el primer pocillo y 100 µl en los pocillos 2 al 12, a continuación, se añadió 32 µl de suero a investigar en el pocillo 1. Luego se mezcló el contenido del pocillo 1 (dilución 1/12,5) y 100 µl de esta mezcla, fueron colocados en el pocillo 2, en donde se obtuvo la siguiente dilución (1/25). Las diluciones se realizaron de forma sucesiva hasta el pocillo 12 (dilución 1/25600) (Ron, 2003).

**Tabla 3***Procedimiento para realizar la prueba SAT – titulación*

Pasos	Cúpulas											
	1(*)	2(*)	3(*)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T- SAT (**)	168	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Suero a investigar	32											
Paso de dilución												
T - Ag (**)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubación a 37°C, por 20 horas												
Dilución final	1/12.5	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600

**Nota. (\*)**: Diluciones empleadas en la prueba de rutina**Fuente:** (Ron, 2003).***Interpretación de resultados para SAT***

La lectura se realizó utilizando el dispositivo para lectura de micro placas de titulación, provisto de un espejo de aumento en la parte inferior (Ron, 2003).

**Resultado negativo.** Cuando el antígeno forma en el centro de la cúpula un punto compacto, con un borde neto.

**Resultado positivo.** Cuando se forma una fina capa de sedimento, repartido uniformemente sobre todo el fondo de la cúpula, o cuando existe la formación de una gran zona de sedimentación, rodeada por un espacio de líquido completamente transparente.

Los diferentes porcentajes de aglutinación fueron determinados en comparación con diluciones controles del antígeno, con un porcentaje de aglutinación con valores entre: 0, 25, 50 y 75%.

Los resultados fueron expresados en Unidades Internacionales de Aglutinación de aglutinación como se expresa en la siguiente tabla. (Tabla 4)

**Tabla 4**

*Relación entre el grado de translucidez, dilución del suero a investigar y Unidades Internacionales, según diluciones del suero control positivo*

Dilución del suero	Porcentaje de translucidez de la muestra		
	25%	50%	75%
1/12,5	15 UI	20 UI	25 UI
1/25	30 UI	40 UI	50 UI
1/50	60 UI	80 UI	100 UI
1/100	120 UI	160 UI	200 UI
1/200	240 UI	320 UI	400 UI
1/400	480 UI	640 UI	800 UI
1/800	960 UI	1280 UI	1600 UI
1/1600	1920 UI	2560 UI	3200 UI
1/3200	3840 UI	5120 UI	6400 UI
1/6400	7680 UI	10240 UI	12800 UI
1/12800	15360 UI	20480 UI	25600 UI
1/ 25600	30720 UI	40960 UI	51200 UI

**Nota. UI:** Unidades Internacionales de aglutinación, punto a partir del cual las muestras son consideradas positivas para bovinos (Cut off) = 30 UI

**Fuente:** (Ron, 2003).

### **Interpretación global de los resultados de pruebas diagnósticas**

Con la finalidad de obtener resultados de mayor sensibilidad y especificidad del diagnóstico serológica de brucelosis, los resultados imperfectos de las pruebas individuales fueron combinados de forma “paralela” y en “serie”.

Para aumentar la sensibilidad diagnóstica del estudio, los resultados positivos de cada prueba serológica fueron sumados, creando así las llamadas “pruebas en paralelo”, donde un animal fue considerado como positivo si obtiene un

resultado positivo a cualquiera de las pruebas aplicadas. Por el contrario, para aumentar la especificidad diagnóstica del estudio, los resultados de cada una de las pruebas fueron confrontados, asumiéndose que un animal fue positivo si obtuvo un resultado positivo a las dos pruebas serológicas, creando así las llamadas “pruebas en serie”.

### **Análisis de la información**

La información que se obtuvo de las encuestas de las 15 fincas fue analizada por medio de estadística descriptiva (media, error estándar y coeficiente de variación). El análisis se realizó a fincas ganaderas las cuales constarán de la clasificación del rebaño según el número de bovinos existentes (Tabla 5).

La información se analizó con estadística descriptiva, utilizando la prueba Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ), para inferir si determinada variable tiene asociación con la prevalencia de brucelosis en bovinos. El sentido y la magnitud de la asociación entre las dos variables fue estimada por medio de Odds ratio (OR) para variables que tengan diferencia significativa a la prueba  $\chi^2$ . Todo el análisis tuvo un nivel de confianza del 95% y se realizaron en el software estadístico Infostat.

### **Tabla 5**

*Clasificación de las fincas según el tamaño del hato ganadero*

<b>Tamaño del hato Ganadero</b>	<b>Número de bovinos</b>
Grande	Mayor a 70
Mediana	21 a 70
Pequeña	1 a 20

### **Determinación de la prevalencia de la enfermedad**

Se evaluó la prevalencia de la enfermedad en el estudio de forma general mediante la siguiente fórmula:

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

De igual manera se estimó la prevalencia de forma parcial y específica mediante las siguientes fórmulas:

#### **Prevalencia por hato ganadero**

$$Ph = \frac{\text{número de animales positivos por hato}}{\text{número total de animales muestreados por hato}} \times 100$$

#### **Prevalencia por sexo**

$$P_{sx} = \frac{\text{número de animales positivos por sexo}}{\text{número total de animales muestreados por sexo}} \times 100$$

#### **Prevalencia por edad**

$$P_e = \frac{\text{número de animales positivos por edad}}{\text{número total de animales muestreados por edad}} \times 100$$

#### **Prevalencia por raza**

$$P_r = \frac{\text{número de animales positivos de la misma raza}}{\text{número total de animales muestreados de la misma raza}} \times 100$$

### **Determinación de los factores de riesgo**

Debido a la naturaleza del muestreo y del estudio (transversal) la medida epidemiológica para este tipo de estudio de cohorte es el Odds Ratio (OR) que indica el cociente entre la probabilidad de que un evento suceda frente a la probabilidad de que no ocurra. (Cerdea et al., 2013). Para la determinación de los posibles factores de riesgo, se realizó un análisis univariado, confrontando los factores ya descritos en la literatura (sexo del animal, vacunación, antecedentes de abortos, tamaño de la finca) con los resultados obtenidos a las pruebas diagnósticas.

**Tabla 6***Tabla tetracórica en estudio de casos y controles*

	<b>Casos</b>	<b>Controles</b>
Expuestos	a	b
No expuestos	c	d

**Fuente:** (Guaicha & Idrovo, 2013)**Fórmula:****Odds de exposición en casos**

$$OR = \frac{\text{Odds de exposición en casos}}{\text{Odds de exposición en controles}}$$

$$\frac{a}{c} = \frac{\text{casos expuestos}}{\text{casos no expuestos}}$$

**Odds de exposición en controles**

$$\frac{b}{d} = \frac{\text{no casos en expuestos}}{\text{no casos en no expuestos}}$$

Por lo tanto, la fórmula de Odds Ratio es:

$$OR = \frac{a/c}{b/d} = \frac{a * d}{b * c}$$

$$OR = \frac{a * d}{b * c}$$

Si el OR es superior a 1, indicaría que existe asociación entre la exposición a un determinado factor de riesgo y el hecho de sufrir la enfermedad (Guaicha & Idrovo, 2013).

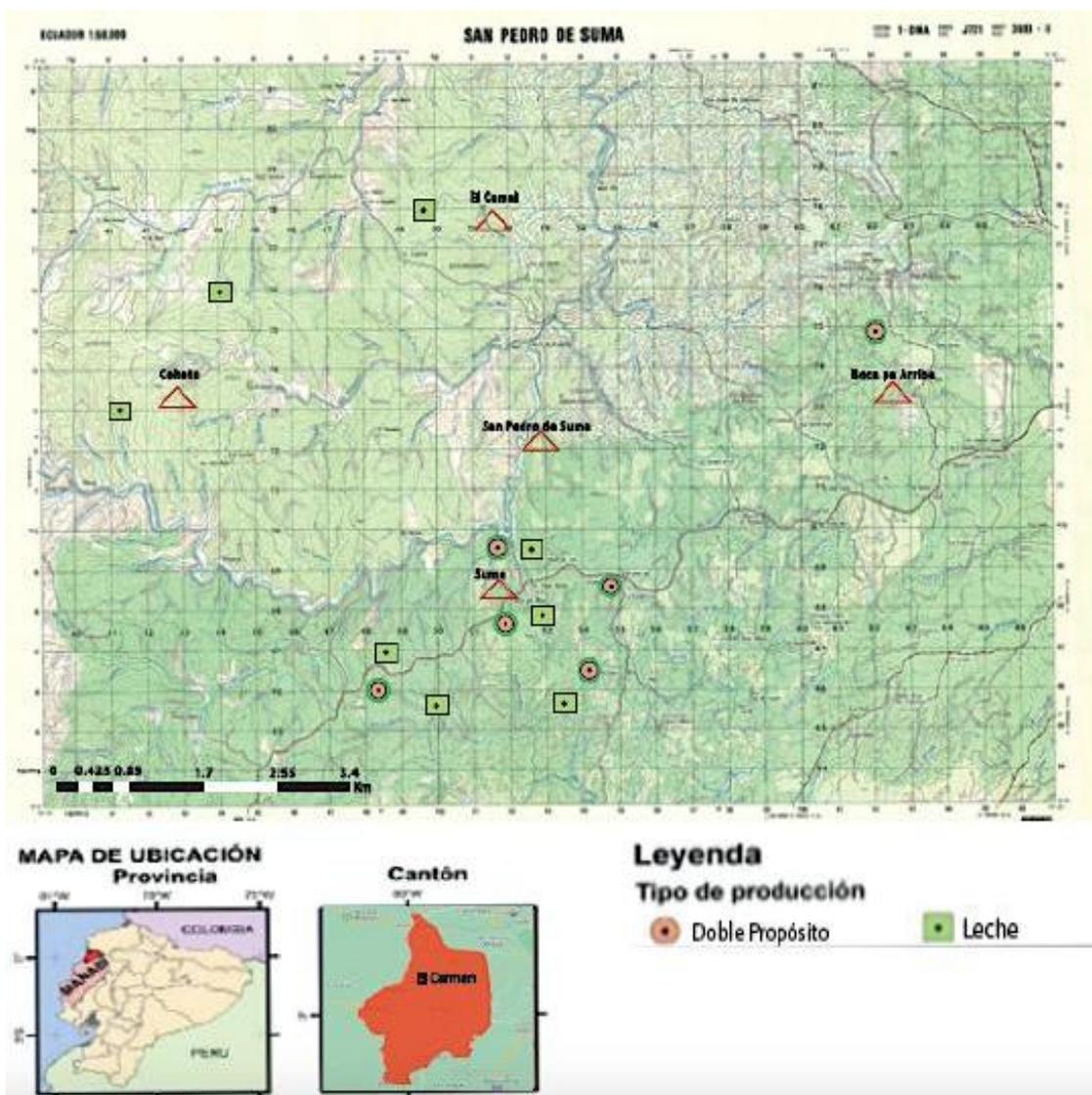
## Capítulo IV

### Resultados y Discusión

#### Georreferenciación

#### Figura 5

*Georreferenciación fincas ganaderas en San Pedro de Suma*



## Estadística descriptiva de la muestra

### ***Distribución de animales muestreados por tamaño de UPA***

En el estudio epidemiológico se analizaron 125 muestras de bovinos los cuales pertenecen a 4 sectores de la parroquia de San Pedro de Suma en la provincia de Manabí. Las UPAs se encuentran estructuradas dentro de 3 fincas pequeñas, 5 fincas medianas y 7 fincas grandes, las cuales se dedican a producción láctea y doble propósito.

El tamaño de las UPAs dentro en la parroquia se organiza con 4% (5/125), ubicadas en hatos ganaderos pequeños, 18,4% (23/125) en hatos ganaderos medianos y 77,6% (97/125) en hatos ganaderos pequeños (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Número de muestras por tamaño de UPA*

<b>Tamaño de finca</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>
Pequeñas	5	0	0
Medianas	23	2	8,6
Grandes	97	4	4,1
Total	125	6	

**Nota.** \*Se consideran como finca Grande: con mas de 70 animales; Mediana: 21 a 70 animales y Pequeña: de 1 a 20 animales. UPA: Unidad de producción Agropecuaria; n: bovinos muestreados; +: positivos; %: porcentaje equivalente.

### ***Distribución de animales muestreados por sector, sexo y tipo de producción***

La mayor cantidad de bovinos muestreados se encontraron y están ubicados en el recinto "Suma" con 70,4% (88/125), en el recinto "Cohete" con el 18,4% 23/125, en el recinto "El Camal" con 4,8% (6/125) y en el recinto "Boca pa arriba" con 6,4% (8/125) . Se recolectaron muestras de 3 machos y 122 hembras, correspondiente a 2,4% y 97,6% respectivamente. La actividad económica de los hatos ganaderos fue la producción de leche con un 79,2% (99/125).

De igual manera, la producción láctea es la actividad con mayor número de bovinos hembras muestreadas con 97,9% (97/99), resaltando los sectores de “Suma” 86,86% (86/99) (Tabla 8).

**Tabla 8**

*Número de animales muestreados por recinto, tipo de producción y sexo*

Recinto	Tipo de producción						Animales positivos	
	Leche		Doble propósito		Muestras			
	#UPA	M	H	M	H	n	%	+
Suma	10	2	68	1	17	88	70,4	5
Cohete	3	0	23	0	0	23	18,4	1
El Camal	1	0	6	0	0	6	4,8	0
Boca pa arriba	1	0	0	0	8	8	6,4	0
Total	15	2	97	1	25	125	100	6

**Nota.** \* UPA: Unidad de producción Agropecuaria; M: macho; H: hembra; n: número de bovinos; %: porcentaje equivalente.

El tipo de producción lechera es la actividad pecuaria con mayor número de animales hembras muestreadas correspondiente a un 79,50% (97/122), destacando el recinto de Suma con un 55,72% (68/122) (Tabla 8).

#### ***Distribución de animales muestreados por sexo y UPA***

En los 15 hatos ganaderos que se realizó el estudio, la UPA FN15, fue la que mayor aporte animal para toma de muestras en bovinos con un total de 18 animales, correspondiente al 14,4% (18/125). De igual forma la propiedad FN15 tuvo el mayor número de hembras dentro del estudio epidemiológico con un 13,6% (17/125), la propiedad FN11, FN12 Y FN15 aportaron con el mismo número de bovinos machos, correspondiente al 33,33% (1/3) en el estudio epidemiológico (Tabla 9).

**Tabla 9***Número de animales muestreados por UPA y sexo*

UPA	Sexo		Muestras		Animales positivos
	M	H	n	%	+
FN1	0	4	4	3,2	1
FN2	0	3	3	2,4	
FN3	0	6	6	4,8	
FN4	0	12	12	9,6	
FN5	0	16	16	12,8	2
FN6	0	2	2	1,6	
FN7	0	5	5	4	1
FN8	0	2	2	1,6	
FN9	0	5	5	4	
FN10	0	13	13	10,4	
FN11	1	13	14	11,2	1
FN12	1	0	1	0,8	
FN13	0	16	16	12,8	1
FN14	0	8	8	6,4	
FN15	1	17	18	14,4	
Total	3	122	125	100	6

**Nota.** UPA: Unidad de producción Agropecuaria; M: macho; H: hembra; n: número de bovinos; %: porcentaje equivalente.

### ***Distribución de bovinos por edad***

En el presente estudio epidemiológico se muestrearon 118 vacas de  $72,12 \pm 4,43$  meses de edad, 4 terneras de  $7,75 \pm 0,49$  meses de edad y 3 toros comprendidos entre  $36,33 \pm 30,5$  meses de edad (Tabla 10 y Tabla 11).

**Tabla 10***Número de hembras muestreadas por edad*

<b>Edad (meses)</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>
0 - 18	12	0	9,6
19-36	2	0	1,6
37 - 54	9	0	7,2
55-72	41	2	32,8
73 - 90	22	2	17,6
91-108	18	1	14,4
110-126	3	0	2,4
129 - 144	2	0	1,6
145 en adelante	0	0	0,0
ND	16	1	12,8
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>6</b>	<b>100</b>

**Nota.** \* ND: animales sin datos ni registros de acuerdo a la variable edad; n= numero de bovinos; +: positivo; %= porcentaje equivalente.

**Tabla 11***Número de hembras de acuerdo al número de partos*

<b>Número de partos</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>Animales positivos</b>
0	65	52	2
1	12	9,6	0
2	13	10,4	1
3	16	12,8	1
4	9	7,2	1
5	3	2,4	0
6	4	3,2	1
7	1	0,8	0
8	2	1,6	0
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>100</b>	<b>6</b>

**Nota.** \* n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente.

**Tabla 12***Número de machos muestreados por edad*

<b>Edad (meses)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
0 - 22	1	33,3
23 - 72	2	66,7
Total	3	100

**Nota.** \*n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente.

***Distribución de animales por raza***

En los hatos ganaderos de la parroquia de San Pedro de Suma se encontraron gran variedad de razas bovinas entre ellas: Brahman, Gyr, Gyrolando, Brown Swiss, Jersey, Angus, Brahngus y mestizas. Son catalogadas como mestizas o F1, las cuales se han destacado características fenológicas como: adaptabilidad al lugar del estudio, producción láctea, producción cárnica y doble propósito (Mullo, 2019).

**Tabla 13***Número de animales muestreados por tipo de raza*

<b>Tipo de raza</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Puros	86	68,8
Mestizos	39	31,2
Total	125	100

**Nota.** \*n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente.

Dentro de las razas que se destacan en el lugar de estudio, siendo bovinos catalogados como puros se encuentran animales raza Brahman con un 40,8% (51/125), seguida de animales raza Gyr con un 17,6% (22/125), también se encuentran animales de raza Gyrolando con un 5,6% (7/125), animales raza Brown Swiss con un 3,2% (4/125), animales raza Jersey y Brahngus con la misma cantidad de animales con un 0,8% (1/125).

De igual manera el cruzamiento de razas bovinas catalogados como mestizos se encuentran con un 31,2% (39/125). Se destacan los bovinos catalogados como animales puros, ya que se manejan cruza mediante herramientas biotecnológicas de la reproducción como: Inseminación Artificial (IA) y Transferencia de Embriones (Tabla 13).

### **Prevalencia de enfermedades infectocontagiosas**

#### ***Brucelosis bovina***

**Prevalencia general de la brucelosis bovina.** Se analizaron 125 muestras de suero sanguíneo bovino, extraído a partir de sangre de los mismos animales, mediante las dos pruebas serológicas: Rosa de Bengala y Sero Aglutinación en Tubo (EDTA), en fase de rutina (SAT-R) y en fase de titulación (SAT-T) (Tabla 14).

**Tabla 14**

*Análisis general de brucelosis por tipo de prueba*

<b>RB</b>	<b>SAT-R</b>	<b>SAT-T</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
-	-	-	119	95,2
+	+	+	2	1,6
+	-	NR	1	0,8
-	+	NR	3	2,4
Total			125	100

**Nota.** \* RB: Rosa de Bengala; SAT-R: Prueba de sero aglutinación lenta de rutina; SAT-T: Titulación de la prueba sero aglutinación; n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente.

Para la prueba serológica RBT, el criterio de evaluación fue la presencia de aglutinación y para la prueba serológica SAT-EDTA se estableció un punto de corte o cut off de 30 UI/ml (Ron, 2003). Por lo cual, en el presente estudio, el número total de muestras negativas es 95,2% (119/125) y el número total de muestras positivas es 4,8% (6/125) (Tabla 14).

El 1,6% (2/125) de las muestras obtenidas, presentaron reacción para RB, SAT-R y SAT-T, presentando títulos serológicos entre 100 a 240 UI/ml, se las

considero positivas por presentar título serológicos mayores al punto de corte (Poester et al., 1998). Estos animales al ser positivos para las dos pruebas, es evidente que presentan grandes cargas de inmunoglobulinas IgM e IgG en su sistema inmune, considerándose posibles animales transmisores de brucelosis para los demás animales de su finca y humanos que conviven con ellos.

El 0,8% (1/125) presento únicamente reacción positiva (aglutinación) para la prueba RB, considerando al animal como positivo para brucelosis (Poester et al., 1998), esto tiene estrecha relación con la aparición de los anticuerpos en etapas de infección o vacunación.

En las dos etapas, aparece en primer lugar las inmunoglobulinas IgM y después IgG, las cuales después de los 6 meses van a desaparecer dependiendo de la vacuna que se ha utilizado para inmunizar los animales o a su vez persistirán cuando se trate de una infección por la enfermedad (Acha & Szyfres, 2001). Esto se evidencia al animal como un bovino que se encuentra en etapa avanzada de infección, ya que no se realiza vacunación preventiva contra brucelosis bovina dentro de la propiedad que pertenece el animal.

Por ultimo, el 2,4% (3/125) de muestras analizadas expresaron una leve aglutinación para la prueba SAT-R en la dilución 1/50, por lo que no se las analizó mediante SAT-T. Sin embargo, después de analizar toda la situación epidemiológica en el cual conviven los bovinos, se verifico que 2,4% (3/125) de animales fueron declarados como bovinos positivos a brucelosis, al presentar aglutinación para la prueba RB, tomando en cuenta que después de seis semanas de infección, se detectan anticuerpos contra *Brucella* spp. siendo inmunoglobulinas del tipo: IgM, IgG1, IgG2 e IgG3 (Guzmán-Hernández et al., 2016), siendo potenciales transmisores de la enfermedad hacia los demás animales que conviven con ellos.

Con todas estas directrices, la prevalencia asignada de brucelosis bovina en los 4 recintos de la parroquia San Pedro de Suma fue estimada en 4,80% (6/125). Este nivel de prevalencia de brucelosis bovina se encuentra acorde con los datos de la región dos con alta prevalencia de 4,27% al 10,62% (AGROCALIDAD, 2008; MAG - SESA, 1999) correspondiente para la provincia de Manabí – Ecuador.

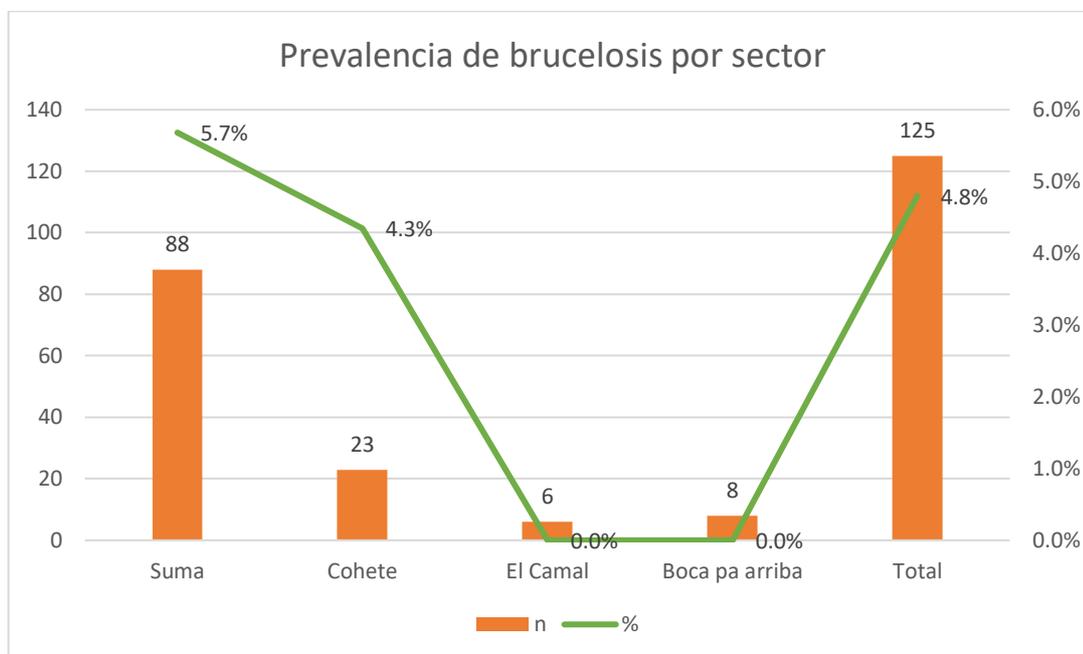
**Prevalencia de brucelosis por sector.** El trabajo de investigación evidenció la presencia de animales positivos a brucelosis en relación al recinto donde están ubicados. Los recintos Suma 5,86% (5/88) y Cohete 4,35% (1/23), presentaron mayor prevalencia a brucelosis bovina en relación a los restantes recintos.

**Tabla 15**

*Prevalencia de brucelosis bovina por sector*

Recinto	Tipo de producción				Muestras	Animales positivos		
	Leche		Doble propósito					
	#UPA	M	H	M	H	n	%	+
Suma	10	2	68	1	17	88	70,4	5
Cohete	3	0	23	0	0	23	18,4	1
El Camal	1	0	6	0	0	6	4,8	0
Boca pa arriba	1	0	0	0	8	8	6,4	0
Total	15	2	97	1	25	125	100	6

**Nota.** \* n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente; +: positivos; 95% CI intervalo de confianza.

**Figura 6***Prevalencia de brucelosis bovina por sector*

**Prevalencia de brucelosis por UPA, tamaño de UPA, y tipo de producción.** El tamaño de las fincas ganaderas evidenciaron un efecto significativo sobre la presencia de brucelosis bovina. Los animales positivos para brucelosis bovina únicamente se encontraron en fincas de tamaño mediano y grande, donde la última fecha de vacunación contra brucelosis bovina fue 6 meses atrás con Rb 51, presentando una prevalencia de 4,12% (4/97) para fincas grandes y una prevalencia de 8,69% (2/23) para fincas medianas (Tabla 12). Esto coincide con (Arrais de Alencar et al., 2016; Cárdenas et al., 2019; Mullo, 2019), que el tamaño de la finca mediana presentó mayor prevalencia a brucelosis que el resto de tamaños de fincas.

**Tabla 16***Prevalencia de brucelosis bovina por tamaño de UPA*

<b>Tamaño de finca</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>	<b>95% CI</b>
Pequeñas	5	0	0	0%
Medianas	23	2	8,69	8,31 – 9,09
Grandes	97	4	4,12	3,93 – 4,32
Total	125	6		

**Nota.** \* Se consideran como finca Grande: con mas de 70 animales; Mediana: 21 a 70 animales y Pequeña: de 1 a 20 animales. UPA: Unidad de producción Agropecuaria; n: bovinos muestreados; %: porcentaje equivalente; n= numero de bovinos; %= porcentaje equivalente; 95% CI intervalo de confianza.

De igual manera, en base al tipo de producción de las fincas, la prevalencia fue de 2,02% (2/98) en las fincas con tipo de producción lechera y 15,38% (4/26) para las fincas destinadas a producción doble propósito. A su vez, no existe efecto significativo entre el tipo de producción de las fincas y la prevalencia de brucelosis bovina ( $p= 0,2367$ ). Esto coincide con (Carbonero et al., 2018), donde se conoce que no existe asociación entre el sistema de producción y tamaño del hato con la prevalencia de brucelosis bovina en los animales que se encuentran dentro de la finca (Tabla 17).

**Tabla 17***Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de producción ganadera*

<b>Tipo de producción</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>	<b>95% CI</b>
Leche	99	2	2,02	1,83 – 2,22
Doble propósito	26	4	15,38	15,03 – 15,74
Total	125	6		

**Nota.** \* n: número; +:Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad.

A su vez el mayor número de animales positivos en el estudio se encontró en las fincas FN1 y FN7 con un 25% y 20% de animales infectados con brucelosis bovina. En dichas fincas existió títulos serológicos superiores al punto de corte sugerido por (Poester et al., 1998; Ron, 2003). Para la FN1 los títulos serológicos expresados fueron de 100 a 240 UI/ml y en FN7 de 40 UI/ml.

De igual forma la finca FN5 presento prevalencia de 12,5% (2/16) con bovinos los cuales expresaron títulos serológicos de 40 a 200 UI/ml en el diagnostico.

**Tabla 18**

*Prevalencia de brucelosis bovina por UPA*

<b>Finca</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>	<b>95% CI</b>
FN1	4	1	25,00	24,15 – 25,85
FN5	16	2	12,50	12,04 – 12,96
FN7	5	1	20,00	19,22 – 20,78
FN11	14	1	7,14	6,64 – 7,65
FN13	16	1	6,25	5,78 – 6,72
Total	55	6		

**Nota.** \* +: Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad; UPA : unidad de producción agropecuaria.

La existencia de animales positivos a brucelosis bovina dentro de las fincas, provoca la propagación de la enfermedad, generando la alta prevalencia de las propiedades, porque los animales con altos títulos serológicos se convierten focos de dispersión de la enfermedad para el resto de animales que permanecen en la propiedad. Esto se debe a que, al momento de encontrarse con otras vacas, estas tienden a lamer los órganos sexuales donde existe liberación a través de la vulva de loquios y secreciones vaginales post parto. Estas secreciones vaginales de los bovinos infectados es la principal fuente, foco de infección y amplia diseminación del microorganismo causante de brucelosis bovina (Biberstein & Chung, 1994).

Otra importante vía de transmisión de la enfermedad es por la vía sexual mediante el coito entre los animales (Acha & Szyfres, 2001). Un riesgo menor de infección se presenta al momento de hacer uso de biotecnologías reproductivas como la Inseminación Artificial (IA) sin conocer la procedencia del semen y estatus sanitario del toro (Cárdenas et al., 2019).

**Prevalencia de brucelosis por sexo.** El sexo influye una categoría muy crítico para presencia de brucelosis en las fincas ganaderas, lo que aparentemente constituye a hembras como una categoría susceptible al momento a contraer la enfermedad (Acha & Szyfres, 2001). El riesgo de infección aumenta en todas las fincas ganaderas, donde exista un gran número de hembras dentro del mismo hato ganadero (Arrais de Alencar et al., 2016; Matope et al., 2010).

En el presente estudio no se encontró efecto significativo entre el sexo de bovino y positividad ante brucelosis ( $p= 0,423$ ). La prevalencia de brucelosis bovina para hembras se encontró en el orden de 4,92% (6/122) y de machos de 0% (0/3) (Tabla 19).

**Tabla 19**

*Prevalencia de brucelosis bovina por sexo*

<b>Sexo</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>	<b>95% CI</b>
Machos	3	0	0,00	0
Hembras	122	6	4,92	4,75 – 5,09
Total	125	6		

**Nota.** \* n: bovinos muestreados +: Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad.

**Prevalencia de brucelosis por edad.** Los animales muestreados en el estudio con edades comprendidas entre 55-72; 73-90, 91-108 y edad no definida (ND) meses de edad, presentaron prevalencia de 4,08% (2/49) y 8,90% (4/45)

respectivamente (Tabla 20). Los bovinos hembras adultos presentaron un efecto significativo entre la prevalencia de brucelosis y edad de los bovinos ( $p=0,0055$ ).

La edad del animal esta estrechamente ligado a ser susceptible para contagio con *Brucella*, los diferentes animales de un rebaño manifiestan distinto grado de vulnerabilidad a la infección (Acha & Szyfres, 2001). Los terneros y terneras de hasta seis meses de edad son poco susceptibles a la infección y se infectan en el mayor del caso de forma transitoria. Sin embargo, las vacas preñadas son mas susceptibles a infección, generación de abortos y transmisión intrauterina al tenero. En la placenta de la vaca se ha demostrado la existencia de eritritol, el cual es un estimulante de crecimiento y multiplicación para *B. abortus*, explicando la afinidad existente para tejidos fetales del bovino (Barriga et al., 1981; Corbel, 2006).

**Tabla 20**

*Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de edad*

Edad (Meses)	n	+	%	95% CI
0 - 18	12	0	0	0
19-36	2	0	0	0
37 - 54	9	0	0	0
55-72	41	2	1,60	0 – 3,35
73 - 90	22	2	1,60	0 – 3,35
91-108	18	1	0,8	0 – 2,55
110-126	3	0	0	0
129 - 144	2	0	0	0
145 en adelante	0	0	0	0
ND	16	1	0,8	0 – 2,55
Total	125	6	100	

**Prevalencia de brucelosis por raza.** No existe efecto significativo entre la raza de los animales y la seropositividad a brucelosis bovina ( $p=0,128$ ).

**Tabla 21**

*Prevalencia de brucelosis bovina por tipo de raza*

<b>Raza</b>	<b>n</b>	<b>+</b>	<b>%</b>	<b>95% CI</b>
Puros	86	4	4,65	4,44 – 4,86
Mestizos	39	2	5,13	4,82 – 5,43
Total	125	6		

**Nota.** \* n: numero de bovinos; +: Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad.

### **Factores de riesgo para el contagio de brucelosis bovina**

#### ***Datos generales de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPA)***

Mediante la aplicación de una encuesta económica y epidemiológica para brucelosis bovina, se recopiló información necesaria para el establecimiento concreto de los factores de riesgo existentes para enfermedades zoonóticas como brucelosis bovina y pérdidas económicas que causa esta enfermedad en las UPAs. La encuesta se aplicó a las personas responsables de la actividad ganadera en cada finca estudiada. Lastimosamente, no fue posible obtener toda la información fiable y completa, ya que las personas encuestadas: propietario, vaquero, jornalero, capataz, desconocían de la información y no mantenían registros zootécnicos, reproductivos y sanitarios de los bovinos.

El presente estudio epidemiológico y económico de la brucelosis bovina se realizó a 15 fincas ganaderas clasificadas como: 3 fincas Grandes; 4 fincas Medianas y 8 fincas Pequeñas. De las cuales el 53,3% (8/15) cuentan con asistencia veterinaria de carácter clínico y ginecológico.

La parroquia San Pedro de Suma es una zona ganadera destacada por la producción de leche, en donde el 100% (15/15) de las fincas ganaderas estudiadas realiza las actividades de ordeño de forma manual. Sin embargo, el 13,3% (2/15) tienen presencia de otras especies animales que sirven para el trabajo de la ganadería. (caballos, mulas y burros 3,04%); animales de compañía (perros y gatos 3,42%) y animales para comercialización y consumo propio (aves y cerdos 93,53%).

### ***Factores de riesgo para brucelosis bovina***

Para el análisis de los factores de riesgo para brucelosis bovina, se dividió en dos grupos, aquellos que intervienen de forma directa a los animales y los que están relacionados con el manejo de las fincas ganaderas. Se consideraron factores de riesgo si presentaron ( $p < 0.05$ ;  $OR > 1$ ) y como factores protectantes si presentaron ( $p > 0.05$ ;  $OR > 1$ ) (Guaicha & Idrovo, 2013; Mullo, 2019).

**Tabla 22**

*Número de animales de otras especies*

<b>Especie</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Caballos	3	1,14
Cabras	0	0,00
Camélidos	0	0,00
Cerdos	41	15,53
Gallinas	205	77,65
Gatos	0	0,00
Mulares	6	2,27
Ovejas	0	0,00
Perros	9	3,41
Total	264	

**Nota.** \* n: número de bovinos; %: porcentaje de presencia.

No se identificó ningún factor de riesgo para seropositividad de animales para brucelosis en bovinos (Tabla 23), en tanto que se pudo determinar la existencia de dos factores de riesgo para seropositividad de las UPAs (Tabla 24). De igual forma, como menciona (Casas, 2008), que la vacunación con RB51 protege de forma

segura y eficaz contra brucelosis bovina en todas las edades, sin embargo, se debe realizar una primovacuna a terneros de 3 y 6 meses de edad. De igual forma se recomienda la vacunación en bovinos adultos y bovinos jóvenes generando inmunidad en contra de la enfermedad, protegiéndolos contra el aborto o contra el desafío de infección intraconjuntival de la cepa virulenta 2308 (Schurig et al., 1991; Uzal et al., 2000). Para bovinos gestantes se recomienda el uso de una vacuna de cepa rugosa (Barbosa et al., 2017).

En los bovinos adultos que presentan madurez sexual, tiene relación estrecha con el contagio por brucelosis, debido a que los animales son vulnerables a infectarse por la exposición de fluidos, secreciones o tejidos de bovinos que son prioritarios para las bacterias del género *Brucella* (Corbel, 2006; Sanogo, 2015).

La presencia de animales domésticos como los perros dentro de las fincas ganaderas son factores importantes para el difícil control y prevención de enfermedades, ya que son mecanismos vivos para diseminación y transmisión de patógenos dentro de los animales que conviven con ellos. Para el caso de brucelosis bovina, los perros están en la capacidad y pueden consumir restos placentarios generados por los partos o abortos existentes en la finca, provocando diseminación de la enfermedad, considerándolos como reservorios y posibles portadores de la enfermedad dentro de las fincas ganaderas (Center for Food Security & Public Health, 2009; Prior, 1976; Wareth et al., 2017).

De acuerdo a los factores que intervienen y están relacionados con el manejo de las fincas ganaderas y condiciones operativas como: asistencia veterinaria clínica – reproductiva y desconocimiento total o parcial de la enfermedad por parte del grupo de trabajo y/o dueño de las propiedades, son aliados estratégicos para los factores de riesgo que debemos considerar de carácter importante, generando de forma oportuna un servicio de alta calidad en las explotaciones ganaderas, contribuyendo a una eficaz transferencia del conocimiento acerca de la brucelosis,

para evitar perdidas economicas y precautelar la salud publica, desarrollando estrategias de prevencion y erradicacion (Cárdenas, 2018; Herrán et al., 2020; Terefe et al., 2017).

**Tabla 23**

*Factores de riesgo asociado a la seropositividad de animales a brucelosis bovina*

Factor	n	Serología		Odds ratio	95% IC		p - valor
		Positivo	%		Inferior	Superior	
Edad							
Sexualmente maduro	96	6	6,25	-	-	-	0,22
Sexualmente inmaduro	29	0	0				
Sexo							
Hembra	122	6	4,92	-	-	-	0,42
Macho	3	0	0				
Vacunación							
Si	43	4	9,30	4,10	0,62	17,98	0,09
No	82	2	2,44				
Presencia de perros							
Si	38	2	5,26	1,15	0	12,36	0,13
No	87	4	4,60				
Raza							
Puro	89	4	4,49	0,8	0,19	8,79	0,15
Mestizo	36	2	5,56				
Mal manejo de abortos							
Si	53	2	5,13	0,34	0	11,06	0,025
No	39	4	10,26				

**Nota.** \* n: numero de bovinos; +: Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad; p-valor: valores < 0,05 se consideran como significativos; OR: se consideran significativos  $x > 1$ ; \* Se consideró animales maduros mayores a 23 meses de edad.

Por otra parte, al hablar de signos clinicos que afectan a los bovinos como son: abortos, retencion placentaria, higromas y orquitis (Poester et al., 2010), se

conoce que son síntomas que existen por medio de otro tipo de patologías que ocasionan los mismos signos existentes en los bovinos causados por brucelosis. El diagnóstico clínico de la enfermedad esta basado usualmente por los datos y defectuoso estado reproductivo del animal dentro de los parametros reproductivos de la finca ganadera (Poester et al., 2010).

**Tabla 24**

*Factores de riesgo asociado a la seropositividad de las UPAs a brucelosis bovina*

Factor	n	Brucelosis		Odds ratio	95% IC		p - valor
		Positivo	%		Inferior	Superior	
Servicio veterinario							
Si	8	3	37,50	3,6	3,95	71,05	0,038
No	7	1	0				
Conocimiento de la enfermedad							
Si	13	4	30,77	-	5,68	55,86	0,44
No	2	0	0				
Signos clínicos UPA							
Si	9	3	33,33	2,50	2,53	64,13	0,092
No	6	1	16,67				
Presencia de perros							
Si	8	1	12,50	0,19	0	35,42	0,038
No	7	3	42,86				
Tipo de producción							
Leche	8	3	37,50	3,6	3,95	71,05	0,038
Doble proposito	7	1	14,29				
Mal manejo de abortos							
Si	8	1	14,29	0,19	0	38,53	0,038
No	7	3	42,86				

**Nota.** \* n: numero de bovinos; +: Positivo; %: porcentaje de prevalencia; CI 95%: intervalo de confianza al 95% de confiabilidad; p-valor: valores < 0,05 se consideran como significativos; OR: se consideran significativos  $x > 1$ .

### Manejo de biológicos para prevención de brucelosis bovina

Mediante la aplicación de la encuesta epidemiologica a los propietarios, administradores, trabajadores y vaqueros de cada finca, se determino que solo el 33,33% (5/15) de las fincas ganaderas realizan inmunización contra brucelosis

bovina utilizando la vacuna RB-51, el 66,66% (10/15) de las fincas ganaderas no realiza vacunacion a sus animales contra brucelosis bovina y el 40% (6/15) realiza diagnóstico serológico para brucelosis bovina al menos una vez al año.

La falta de registros y planes sanitarios ha sido un problema en las ganaderías de la parroquia de San Pedro de Suma, ya que se maneja un sistema ganadero tradicional y extensivo. A su vez, no existe la presencia de asistencia técnica veterinaria para asesoramiento continuo sobre protocolos de inmunización contra enfermedades víricas o bacterianas que afectan los bovinos.

**Tabla 25**

*Protocolo de inmunización y uso de biológicos contra brucelosis bovina*

UPA	Vacunación	Cepa vacunal	Edad primo vacunación	Edad revacunación	Animales positivos
FN1	Si	RB 51	12 meses	Antes del servicio	1
FN3	Si	RB 51	8 meses	20 meses	-
FN4	Si	RB 51	3 - 8 meses	Antes del servicio	-
FN5	Si	RB 51	8 meses	12 meses	2
FN7	No	Ninguna	-	-	1
FN9	Si	RB 51	8 meses	12 meses	-
FN11	No	Ninguna	-	-	1
FN13	No	Ninguna	-	-	1

El 33,33% (5/15) fincas ganaderas compran vacuna contra brucelosis y mantienen un protocolo de inmunización cadúco y sin carácter técnico, realizando la primovacuna entre los 3 - 8 meses de edad del bovino y revacunación desde los 12 meses hasta antes del servicio, sin embargo, se debe realizar un protocolo adecuado de vacunación, iniciando la primovacuna a terneros de 3 y 6 meses de edad y revacunación antes del servicio con edad comprendida de 14 – 15 meses de edad (Casas, 2008). La revacunación a los bovinos realizan antes de ser

preñadas, no existe una edad específica para la inmunización, razón por la cual se recomienda la vacunación en bovinos adultos y bovinos jóvenes generando inmunidad en contra de la enfermedad, protegiéndolos contra el aborto o contra el desafío de infección intraconjuntival de la cepa virulenta 2308 (Schurig et al., 1991; Uzal et al., 2000) y para bovinos gestantes se recomienda el uso de una vacuna de cepa rugosa (Barbosa et al., 2017).

### **Pérdidas económicas por brucelosis bovina**

Mediante la aplicación de una encuesta socio-económica y epidemiológica para brucelosis bovina, se recopiló la información del número de abortos existentes para determinar las pérdidas económicas en cada finca ganadera dentro del estudio, relacionando al promedio de producción de litros de leche en la parroquia de San Pedro de Suma.

**Tabla 26**

*Pérdidas económicas anuales ligadas a brucelosis bovina*

Producción litros leche/día	Pérdidas económicas anuales por número de abortos				
	1	2	3	4	5
5	\$ 641	\$ 1.281	\$ 1.922	\$ 2.562	\$ 3.203
10	\$ 1.281	\$ 2.562	\$ 3.843	\$ 5.124	\$ 6.405
12	\$ 1.562	\$ 3.074	\$ 4.612	\$ 6.149	\$ 7.686
15	\$ 1.922	\$ 3.843	\$ 5.765	\$ 7.686	\$ 9.608
20	\$ 2.562	\$ 5.124	\$ 7.686	\$ 10.248	\$ 12.810

**Nota.** Se considera el precio del litro de leche oficial en Ecuador a un valor de 0,42 centavos.

Las pérdidas económicas causadas por brucelosis bovina, genera un alto impacto en el costo de producción en las fincas ganaderas por los problemas reproductivos y su efecto en la producción láctea bovina (Tabla 25). Estas pérdidas económicas están relacionadas con factores clínicos y reproductivos de los animales

como: días infértiles, días abiertos, días intervalo – interparto (Homem et al., 2016), siendo estos factores lo que generen una rentabilidad deficitaria en la ganadería y en algunas ocasiones solo cubra los costos de producción, haciendo que la ganadería sea un negocio no rentable (Santos et al., 2013).

**Tabla 27**

*Pérdidas económicas de cada UPA por abortos en el periodo Mayo 2020 - Mayo 2021*

UPA	Abortos	Producción litros leche/día	Pérdidas económicas por número de abortos
FN1	2	10	\$2.562
FN5	3	12	\$4.612
FN7	1	15	\$1.922
FN11	0	10	\$0
FN13	3	10	\$3.843

Se conoce que en Ecuador, las pérdidas económicas por brucelosis son de 5,5 millones de dólares anuales, por el incremento de abortos, mortalidad de terneros y baja producción láctea en animales con brucelosis (AGROCALIDAD, 2016; McDermott et al., 2013; Santos et al., 2013). En el estudio, el 26,66% (4/15) de fincas ganaderas presentaron animales positivos a brucelosis bovina y presencia de abortos en sus animales, generando pérdidas económicas que afectan al ganadero (Tabla 26).

Para la parroquia de San Pedro Suma, se conoció que el número total de individuos era de 3 mil bovinos, dada que en el estudio la prevalencia es de 4,8% a un nivel de confianza del 95%, se puede tener en promedio 144 bovinos contagiados con brucelosis bovina, siendo que estos animales tengan al menos 1 aborto, ya representa una pérdida de 184.4 mil dólares para la parroquia (considerando una producción promedio de 10 litros de leche diarios perdidos).

## Capítulo V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

El diagnóstico serológico mediante el uso de dos pruebas screening, determinó que la prevalencia de brucelosis bovina en los 125 muestras de suero sanguíneo de 4 sectores de la parroquia de San Pedro de Suma en la provincia de Manabí, es de 4,82% (6/125).

No existió asociación entre los factores de riesgo y el contagio de brucelosis bovina, ya que todos los bovinos que se encontraron dentro del diseño muestral del estudio, conviven bajo similares condiciones de manejo, climáticas, y sanitarias.

No existió un adecuado manejo de biológicos y protocolos de inmunización contra brucelosis bovina, el (5/15) 33,33% de las fincas de San Pedro de Suma vacunan contra brucelosis bovina.

La presencia de brucelosis bovina tiene estrecha relación con la económica ganadera, provocando pérdidas económicas aproximadas de \$1.922 - \$ 3.843 mil dólares para la parroquia de San Pedro de Suma.

#### Recomendaciones

Se recomendó a los ganaderos, el descarte inmediato de los animales positivos a brucelosis bovina para evitar que sean focos de contagio hacia los demás bovinos y otras especies que conviven con ellos.

Realizar pruebas diagnósticas continuas durante dos años con un intervalo de 4 meses cada muestreo, para garantizar el estatus sanitario de sus animales evitando propagación de la enfermedad.

Se recomienda organizar charlas de carácter técnico – informativo acerca de la brucelosis bovina, factores de riesgo asociados a la enfermedad y manejo registros, mediante apoyo y gestión de entidades de control y regulación de sanidad animal en el Ecuador.

Realizar un seguimiento adecuado de prevención y control zoonosario a todas las fincas ganaderas de la parroquia San Pedro Suma, mediante uso de extensionismo rural en propiedades de difícil acceso en Manabí.

Estandarizar métodos de diagnóstico (ELISA) para brucelosis bovina que sean utilizados en la identificación de animales positivos a enfermedades zoonóticas en el Ecuador.

Ampliar la información epidemiológica y económica para brucelosis bovina y otras enfermedades que tengan relación con problemas productivos y reproductivos en los bovinos, estableciendo correlaciones e identificar los factores de riesgo que influyen en el contagio y pérdidas económicas anuales por finca.

## Bibliografía

- Acebo, M., & Castillo, M. J. (2016). *Estudios Industriales: Orientación Estratégica para la toma de decisiones - Industria de Ganadería de Carne*.  
<https://www.espae.espol.edu.ec/industria-ganaderia-de-carne/tp://www.espae.espol.edu.ec/publicaciones-de-espae/>
- Acha, P., & Szyfres, B. (2001). Brucellosis. In OPS & OMS (Eds.), *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. (Vol. 1, Issue 580, pp. 28–56). <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/Acha-Zoonosis-Spa.pdf>
- AGROCALIDAD. (2008). Programa Nacional de Control de Brucellosis Bovina. *Dirección de Sanidad Animal*.
- AGROCALIDAD. (2016). *Manual de procedimientos para la atención y control de Brucellosis bovina en el Ecuador*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/resolucion-0131.pdf>
- Arrais de Alencar, A. L., Ferreira, F., Ferreira Neto, J. S., Dias, R. A., Amaku, M., Hildebrand Grisi-Filho, J. H., Telles, E. O., & Picão Gonçalves, V. S. (2016). Large-scale study of herd-level risk factors for bovine brucellosis in Brazil. *Acta Tropica*, 164, 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.016>
- Asfaw, M., & Mamo, G. (2015). A Review on Diagnostic Methods of Brucellosis. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 07(03), 1–8.  
<https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000323>
- Barbosa, A. A., Figueiredo, A. C. S., Palhao, M. P., Viana, J. H. M., & Fernandes, C. A. C. (2017). Safety of vaccination against brucellosis with the rough strain in pregnant cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 49(8), 1779–1781.

<https://doi.org/10.1007/s11250-017-1361-1>

- Barriga, O. O., Acha, P. N., & Szyfres, B. (1981). Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. *The Journal of Parasitology*, *67*(2), 203. <https://doi.org/10.2307/3280636>
- Barthel, R., Feng, J., Piedrahita, J. A., McMurray, D. N., Templeton, J. W., & Garry Adams, L. (2001). Stable transfection of the Bovine NRAMP1 gene into murine RAW264.7 Cells: Effect on *Brucella abortus* survival. *Infection and Immunity*, *69*(5), 3110–3119. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.5.3110-3119.2001>
- Bernhard, T. (1982). *Brucellosis, distribution in man, domestic and wild animals*.
- Biberstein, E., & Chung, Y. (1994). *Tratado de microbiología veterinaria* (pp. 238–291). Acribia. [https://www.editorialacribia.com/libro/tratado-de-microbiologia-veterinaria\\_54389/](https://www.editorialacribia.com/libro/tratado-de-microbiologia-veterinaria_54389/)
- Bowden, R. (1996). Género *Brucella*. In *Microbiología Veterinaria* (pp. 341–367).
- Carbonero, A., Guzmán, L. T., García-Bocanegra, I., Borge, C., Adaszek, L., Arenas, A., & Saa, L. R. (2018). Seroprevalence and risk factors associated with *Brucella* seropositivity in dairy and mixed cattle herds from Ecuador. *Tropical Animal Health and Production*, *50*(1). <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1421-6>
- Cárdenas. (2018). La brucelosis bovina y sus factores de riesgo: evaluación a nivel mundial y en Colombia [Universitat Autònoma de Barcelona]. In *Universitat Autònoma de Barcelona*. <https://www.tesisenred.net/handle/10803/461075>
- Cárdenas, L., Peña, M., Melo, O., & Casal, J. (2019). Risk factors for new bovine brucellosis infections in Colombian herds. *BMC Veterinary Research*, *15*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1825-9>

- Casas, R. (2008). Informe sobre vacunas y vacunación contra brucelosis bovina. *Veterinaria*, 43(170), 28–37.
- Castro, H. A., González, S. R., & Prat, M. I. (2005). Brucelosis: una revision practica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamerica*, 39(2), 203–216.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539208>
- Center for Food Security & Public Health. (2009). Brucelosis bovina: Brucella abortus. In *Iowa State University*.  
[http://lib.dr.iastate.edu/cfsph\\_factsheets\\_es/15](http://lib.dr.iastate.edu/cfsph_factsheets_es/15)
- Cerda, J., Vera, C., & Rada, G. (2013). Odds ratio: Aspectos teóricos y prácticos. *Revista Medica de Chile*, 141(10), 1329–1335. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872013001000014>
- Corbel, M. (2006). Brucellosis in humans and animals. *WHO Library Catalogue in Publication Data*, 1–88. <https://doi.org/10.2105/AJPH.30.3.299>
- Corbel, M., & Morgan, W. (1982). Clasificación del género Brucella: situación presente. *Revue Scientifique et Technique*, 1(1), 301–310.  
<https://www.oie.int/doc/ged/D6737.PDF>
- Corner, L. A., & Alton, G. G. (1981). Persistence of Brucella abortus strain 19 infection in adult cattle vaccinated with reduced doses. *Research in Veterinary Science*, 31(3), 342–344. [https://doi.org/10.1016/s0034-5288\(18\)32468-8](https://doi.org/10.1016/s0034-5288(18)32468-8)
- Cvetnic, Z., Spicic, S., Curic, S., Jukic, B., Lojkic, M., Albert, D., Thiébaud, M., & Garin-Bastuji, B. (2005). Isolation of Brucella suis biovar 3 from horses on Croatia. *Veterinary Record*, 156(18), 584–585.  
<https://doi.org/10.1136/vr.156.18.584>
- D’Anastasio, R., Staniscia, T., Milia, M. L., Manzoli, L., & Capasso, L. (2011). Origin,

evolution and paleoepidemiology of brucellosis. *Epidemiology and Infection*, 139(1), 149–156. <https://doi.org/10.1017/S095026881000097X>

De Figueiredo, P., Ficht, T. A., Rice-Ficht, A., Rossetti, C. A., & Adams, L. G. (2015). Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: Review of Brucella-host interactions. *American Journal of Pathology*, 185(6), 1505–1517. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003>

Díaz, R., Casanova, A., Ariza, J., & Moriyón, I. (2011). The rose Bengal test in human brucellosis: A neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(4), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000950>

Dorneles, E. M. S., Sriranganathan, N., & Lage, A. P. (2015). Recent advances in Brucella abortus vaccines. *Veterinary Research*, 46(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0199-7>

Ducrotoy, M. J., Bertu, W. J., Ocholi, R. A., Gusi, A. M., Bryssinckx, W., Welburn, S., & Moriyón, I. (2014). Brucellosis as an Emerging Threat in Developing Economies: Lessons from Nigeria. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003008>

Emmerzaal, A., de Wit, J. J., Dijkstra, T., Bakker, D., & van Zijderveld, F. G. (2002). The Dutch Brucella abortus monitoring programme for cattle: The impact of false-positive serological reactions and comparison of serological tests. *Veterinary Quarterly*, 24(1), 40–46. <https://doi.org/10.1080/01652176.2002.9695123>

FAO. (2008). *Ayudando a desarrollar una ganadería sustentable en América Latina y el Caribe: Lecciones a partir de casos exitosos*. Oficina Regional Para América Latina y El Caribe. <http://www.fao.org/3/I0082s/I0082s00.pdf>

- Ficht, T. A. (2003). Intracellular survival of *Brucella*: Defining the link with persistence. *Veterinary Microbiology*, 92(3), 213–223.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00367-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00367-X)
- Gall, D., Colling, A., Marino, O., Moreno, E., Nielsen, K., Perez, B., & Samartino, L. (1998). Enzyme immunoassays for serological diagnosis of bovine brucellosis: A trial in Latin America. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(5), 654–661. <https://doi.org/10.1128/cdli.5.5.654-661.1998>
- Gil, A., & Samartino, L. (2001). ZONOSIS EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LAS ÁREAS URBANAS Y PERIURBANAS DE AMÉRICA LATINA. *Food and Agriculture Organization (FAO)*, 2, 23–27.  
<http://www.bvsde.paho.org/bvsea/fulltext/gil.pdf>
- Godfroid, J., Nielsen, K., & Saegerman, C. (2010). Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croatian Medical Journal*, 51(4), 296–305.  
<https://doi.org/10.3325/cmj.2010.51.296>
- Gorvel, J. P., & Moreno, E. (2002). *Brucella* intracellular life: From invasion to intracellular replication. *Veterinary Microbiology*, 90(1–4), 281–297.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00214-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00214-6)
- Guaicha, O., & Idrovo, A. (2013). *Odds Ratio*. Universidad de Cuenca.  
<https://es.slideshare.net/omargp100/odds-ratio-27849262>
- Guzmán-Hernández, R., Contreras-Rodríguez, A., Daniel Ávila-Calderón, E., & Rosario Morales-García, M. (2016). Brucellosis: zoonosis de importancia en México Brucellosis: a zoonosis of importance in Mexico. *Rev Chilena Infectol*, 33(6), 656–662. [www.sochinf.cl](http://www.sochinf.cl)
- Halling, S. M., & Boyle, S. M. (2002). Brucellosis. *Veterinary Microbiology*, 90(4), 1–

3. <https://www.sciencedirect.com/journal/veterinary-microbiology/vol/90/issue/1>

Herrán, O. L., Azevedo Santos, H., Jaramillo Delgado, I. L., & da Costa Angelo, I. (2020). Seroepidemiology of bovine brucellosis in Colombia's preeminent dairy region, and its potential public health impact. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(4), 2133–2143. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00377-z>

Homem, V. S. F., De Moraes Higa, Z. M., & Neto, J. S. F. (2016). Proposed model to study the economic impact of bovine brucellosis and tuberculosis: Case study of Pirassununga, SP, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3793–3802. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5Supl2p3793>

INEC. (2017). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2014. *Ecuador En Cifras*, 1–64. [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac\\_2014/Resultados\\_2014/2.Presentacion\\_ESPAC\\_2014.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2014/Resultados_2014/2.Presentacion_ESPAC_2014.pdf)

INEC. (2020). Unidad Contacto : *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*, 2019, 14. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2019/Boletin\\_Tecnico\\_ESPAC\\_2019.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2019/Boletin_Tecnico_ESPAC_2019.pdf)

Kaltungo, B. Y., Saidu, S. N. A., Sackey, A. K. B., & Kazeem, H. M. (2014). A review on diagnostic techniques for brucellosis. *African Journal of Biotechnology*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.13442>

Madkour, M. M. (2001). Madkour's Brucellosis. In U.S. Government Printing Office (Ed.), *Madkour's Brucellosis*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-59533-2>

MAG - SESA. (1999). *Prevención y control de la brucelosis bovina en Ecuador*.

- Martínez, R., Toro, R., Montoya, F., Burbano, M., Tobón, J., Gallego, J., & Ariza, F. (2005). Evaluación genética para resistencia a brucelosis bovina en ganado criollo colombiano bon. *Archivos de Zootecnia*, *54*, 333–340.  
<https://www.redalyc.org/pdf/495/49520735.pdf>
- Matope, G., Bhebhe, E., Muma, J. B., Lund, A., & Skjerve, E. (2010). Herd-level factors for *Brucella* seropositivity in cattle reared in smallholder dairy farms of Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine*, *94*(3–4), 213–221.  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.01.003>
- McDermott, J., Grace, D., & Zinsstag, J. (2013). Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, *32*(1), 249–261. <https://doi.org/10.20506/RST.32.1.2197>
- Minharro, S., Silva Mol, J. P., Dorneles, E. M. S., Pauletti, R. B., Neubauer, H., Melzer, F., Poester, F. P., Dasso, M. G., Pinheiro, E. S., Soares Filho, P. M., Santos, R. L., Heinemann, M. B., & Lage, A. P. (2013). Biotyping and genotyping (MLVA16) of *brucella abortus* isolated from cattle in Brazil, 1977 to 2008. *PLOS ONE*, *8*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081152>
- Ministerio de Salud Pública. (2019). *Enfermedades Zoonoticas Ecuador*.  
[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_)
- Mullo, A. (2019). *Determinacion del estado sanitario del ganado bovino mediante análisis serológico, coproparasitario y de parámetros fisiológicos en la parroquia de Pedernales de la provincia de Manabí – Ecuador*. [UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE].  
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/21027/1/T-IASA I-005502.pdf>
- Nicoletti, P. (1984). Vaccination of cattle with *Brucella abortus* Strain 19 administered by differing routes and doses. *Vaccine*, *2*(October 1983), 133–135.

[https://doi.org/10.1016/0264-410x\(84\)90004-5](https://doi.org/10.1016/0264-410x(84)90004-5)

- Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary Microbiology*, 90(1–4), 447–459. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00229-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00229-8)
- OIE. (2018). BRUCELOSIS (BRUCELLA ABORTUS, B. MELITENSIS Y B. SUIS) (INFECCION POR B. ABORTUS, B. MELITENSIS Y B. SUIS). In *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres* (pp. 1–48). <https://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf>
- Olsen, Bellaire, H. B., Roop, R. M., & C, T. O. (2010). Brucella. In *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals* (pp. 429–438). Gyles, Carlton L. Prescott, John F. Songer, J. Glenn Thoen, Charles O. <https://doi.org/10.1002/9780470958209>
- Olsen, S. C., & Stoffregen, W. S. (2005). Essential role of vaccines in brucellosis control and eradication programs for livestock. *Expert Review of Vaccines*, 4(6), 915–928. <https://doi.org/10.1586/14760584.4.6.915>
- Pacheco, M., Patiño, R. E., Torres, L., Jiménez, S., Rodríguez, J. L., & Caro-Quintero, A. (2017). The draft genome of Brucella abortus strain Ba col-B012, isolated from a dairy farm in Nariño, Colombia, bring new insights into the epidemiology of biovar 4 strains. *Standards in Genomic Sciences*, 12(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40793-017-0299-2>
- Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L., & Tsianos, E. V. (2006). The new global map of human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases*, 6(2), 91–99. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70382-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70382-6)
- Parra, V., & Tipanluisa, D. (2018). *Prevalencia de brucelosis en ganado bovino en la parroquia San Pedro de Suma cantón El Carmen*. [Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/14485>

- Pino Zambrano, M. C. (2017). Manabí provincia pionera del Ecuador en tenencia de ganado, no descata en producción de leche. *Contribuciones a Las Ciencias Sociales*, 1, 1–6. <https://www.eumed.net/rev/cccss/2017/01/manabi.html>
- Plommet, M., Fensterbank, R., Renoux, G., Gestin, J., Philippon, A., Borde, R., Marly, J., Dufrenoy, J., Renseigné, N., & Barrault, F. (1973). BRUCELLOSE BOVINE EXPÉRIMENTALE. XII. – PERSISTANCE A L'ÂGE ADULTE DE L'INFECTION CONGÉNITALE DE LA GÉNISSE. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 419–435.
- Poester, F., Nielsen, K., Samartino, L., & Yu, W. L. (2010). Diagnosis of Brucellosis. *Veterinary Science*, 4, 46–60. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(70\)92522-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(70)92522-5)
- Poester, F., Ramos, E., & Thiesen, S. (1998). APPLICATION OF ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAYS FOR THE DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELLOSIS IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL. *Diagnosis and Epidemiology of Animal Diseases in Latin America*. <http://www-naweb.iaea.org/nafa/aph/public/poester-indirect-1055.pdf>
- Prior, M. G. (1976). Isolation of *Brucella abortus* from two dogs in contact with bovine brucellosis. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 40(1), 117–118.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. C., & Leonard, F. C. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (Vol. 165, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/s1090-0233\(02\)00137-5](https://doi.org/10.1016/s1090-0233(02)00137-5)
- Ragan, V. E. (2002). The Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) brucellosis eradication program in the United States. *Veterinary Microbiology*, 90(1–4), 11–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00240-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00240-7)
- Rhyan, J. C., Nol, P., Quance, C., Gertonson, A., Belfrage, J., Harris, L., Straka, K.,

- & Robbe-Austerman, S. (2013). Transmission of brucellosis from elk to cattle and bison, Greater Yellowstone Area, USA, 2002-2012. *Emerging Infectious Diseases*, 19(12), 1992–1995. <https://doi.org/10.3201/eid1912.130167>
- Rivas, I. (1981). Situación sanitaria de algunas enfermedades animales. In *Primera Reunión de directores de laboratorios de salud animal del área Andina* (pp. 23–31). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- Rodríguez-Hidalgo, R. I., Contreras-Zamora, J., Ortiz, W. B., Guerrero-Viracocha, K., Salcan-Guaman, H., Minda, E., & Garrido, L. R. (2015). Circulating strains of *Brucella abortus* in cattle in Santo Domingo de los Tsáchilas Province - Ecuador. *Frontiers in Public Health*, 3, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2015.00045>
- Román, F., & Luna, J. (2017). Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (*Brucella abortus*, *Brucella mellitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*) en el Ecuador y el mundo. *Centro de Biotecnología*, 6(December 2017), 82–93. <http://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/342/309>
- Romero, C., & Lopez, I. (1999). Improved method for purification of bacterial DNA from bovine milk for detection of *Brucella* spp. by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3735–3737. <https://doi.org/10.1128/aem.65.8.3735-3737.1999>
- Ron-Román, J., Ron-Garrido, L., Abatih, E., Celi-Erazo, M., Vizcaíno-Ordóñez, L., Calva-Pacheco, J., González-Andrade, P., Berkvens, D., Benítez-Ortíz, W., Brandt, J., Fretin, D., & Saegerman, C. (2014). Human brucellosis in northwest Ecuador: Typifying *Brucella* spp., seroprevalence, and associated risk factors. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(2), 124–133. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1191>

- Ron, J. (2003). *Validación de técnicas diagnósticas para la detección de brucelosis y estudio epidemiológico en una región andina del Ecuador*. Instituto de Medicina Tropical, Príncipe Leopoldo.
- Roux, J. (1979). Epidemiologie Et Prevention De La Brucellose. *Bulletin of the World Health Organization*, 57(2), 179–194.
- Sanogo, M. (2015). *Contribution à l' épidémiologie de la brucellose bovine en Côte d' Ivoire* [Universite De Liege]. [http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-12232014-115525/unrestricted/Thesis\\_Moussa\\_Sanogo\\_Final\\_version.pdf](http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-12232014-115525/unrestricted/Thesis_Moussa_Sanogo_Final_version.pdf)
- Santos, R., Martins, T. M., Borges, A. M., Economic, P. T. A., Santos, R. L., Martins, T. M., Borges, Á. M., & Paixão, T. A. (2013). Topic of General Interest Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil 1. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 33(6), 759–764.
- Schurig, G. G., Roop, R. M., Bagchi, T., Boyle, S., Buhrman, D., & Sriranganathan, N. (1991). Biological properties of RB51; a stable rough strain of *Brucella abortus*. *Veterinary Microbiology*, 28(2), 171–188. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(91\)90091-S](https://doi.org/10.1016/0378-1135(91)90091-S)
- Schurig, G. G., Sriranganathan, N., & Corbel, M. J. (2002). Brucellosis vaccines: Past, present and future. *Veterinary Microbiology*, 90(1–4), 479–496. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00255-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00255-9)
- Seleem, M. N., Boyle, S. M., & Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.021>
- Szyfres, B., Blood, B., & Moya, V. (1959). *ESTADO ACTUAL DE LA BRUCELOSIS*

*EN AMERICA LATINA.*

- Terefe, Y., Girma, S., Mekonnen, N., & Asrade, B. (2017). Brucellosis and associated risk factors in dairy cattle of eastern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 49(3), 599–606. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1242-7>
- Thrusfield, M. (2007). *Veterinary Epidemiology* (Third Edit). Blackwell Science. [https://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1.\\_veterinary\\_epidemiology\\_thrush\\_filled.pdf](https://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/1._veterinary_epidemiology_thrush_filled.pdf)
- Urighuen, D., & Gomez, L. (1952). BREVE ENCUESTA SEROLOGICA SOBRE BRUCELOSIS EN EL ECUADOR. *Revista Ecuatoriana de Higiene y Medicina Tropical*, 8, 91–99.
- Uzal, F. A., Samartino, L., Schurig, G., Carrasco, A., Nielsen, K., Cabrera, R. F., & Taddeo, H. R. (2000). Effect of vaccination with *Brucella abortus* strain RB51 on heifers and pregnant cattle. *Veterinary Research Communications*, 24(3), 143–151. <https://doi.org/10.1023/A:1006468713614>
- WAHID. (2019). Mapas de distribución de las enfermedades. *WAHIS Interface Animal Health Information Zoosanitaire*, August 2012, 2019. [https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease\\_type\\_hidden=&disease\\_id\\_hidden=&selected\\_disease\\_name\\_hidden=&disease\\_type=0&disease\\_id\\_terrestrial=189&species\\_t=0&disease\\_id\\_aquatic=-999&species\\_a=0&sta\\_meth](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=189&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_meth)
- Wareth, G., Melzer, F., El-Diasty, M., Schmoock, G., Elbauomy, E., Abdel-Hamid, N., Sayour, A., & Neubauer, H. (2017). Isolation of *Brucella abortus* from a Dog and a Cat Confirms their Biological Role in Re-emergence and Dissemination of Bovine Brucellosis on Dairy Farms. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(5), e27–e30. <https://doi.org/10.1111/tbed.12535>

Welburn, S. C., Beange, I., Ducrotoy, M. J., & Okello, A. L. (2015). The neglected zoonoses-the case for integrated control and advocacy. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(5), 433–443. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.011>

Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A., & Kobayashi, S. (2008). Evaluation of surveillance strategies for bovine brucellosis in Japan using a simulation model. *Preventive Veterinary Medicine*, 86(1–2), 57–74. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.03.004>

Zambrano, M., & Pérez, M. (2015). Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista de Salud Animal*, 37(3).