ESCUELA POLITECNICA DEL EJÉRCITO DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

TEMA

"DETERMINAR LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA Y FACTORES DE RIESGO EN LA PARROQUIA ALLURIQUIN, RECINTO CRISTAL DE LELIA"

AUTOR

SERGIO RAMON PAREDES VARGAS

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

2012

ESCUELA POLITECNICA DEL EJÉRCITO DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

TEMA

"DETERMINAR LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA Y FACTORES DE RIESGO EN LA PARROQUIA ALLURIQUIN, RECINTO CRISTAL DE LELIA"

AUTOR

SERGIO RAMON PAREDES VARGAS

INFORME DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO.

SANTO DOMINGO - ECUADOR

2012

TEMA

"DETERMINAR LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA Y FACTORES DE RIESGO EN LA PARROQUIA ALLURIQUIN, RECINTO CRISTAL DE LELIA"

	AUTOR
SERGIO	RAMON PAREDES VARGAS

ING. VICENTE ANZULES.
DIRECTOR CARRERA
INGENIERÍA AGROPECUARIA

Ing. MARCELOIBARRA M. Sc.	Dr. GELACIO GOMEZ
DIRECTOR	CODIRECTOR
Ing. V	INICIO UDAY
BIC	OMETRISTA
	FUE PRESENTADO EN ORIGINAL, MEDIO RESO EN DOS EJEMPLARES.
SECRETA	RIO ACADÉMICO

TEMA

"DETERMINAR LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA Y FACTORES DE RIESGO EN LA PARROQUIA ALLURIQUIN, RECINTO CRISTAL DE LELIA"

AUTOR SERGIO RAMON PAREDES VARGAS

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN DEL INFORME TÉCNICO

	CALIFICACIÓN	FECHA
Ing. Marcelo Ibarra DIRECTOR		
Dr. Gelacio Gomez CODIRECTOR		

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES	FUERON PRESENTADAS EN
ESTA UNIDAD	

SECRETA	RIA ACADÉMICA

DEDICATORIA

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

A todas las personas que de una u otra forma me han ayudado a alcázar esta meta en especial a mis queridos padres y hermanos quienes fueron mi apoyo y guía en todo momento.

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

AGRADECIMIENTO

- Agradezco a DIOS por su inmensa misericordia yhaberme guiado en toda mi vida estudiantil.
- A mis queridos padres por su apoyo incondicional.
- Un agradecimiento muy especial al personal del laboratorio del CIZ y en especial al Dr. Jorge Ron por su la ayuda brindada en la evaluación de las pruebas diagnósticas de *Brucella spp*.
- A los propietarios y trabajadores de las Unidades de Producción Agrícola (UPAs), por su participación voluntaria y gran colaboración en el transcurso de la presente investigación.
- A la Escuela Politécnica del Ejército, especialmente a la Carrera de Ingeniería
 Agropecuaria y a todo el personal docente y administrativo que fueron parte de mi formación.
- Al Director Ing. Marcelo Ibarra, Codirector Dr. Gelacio Gómez y Biometrista
 Ing. Vinicio Uday, por compartir sus experiencias y por sus valiosas sugerencias
 durante el desarrollo de esta investigación.
- A mis compañeros y amigos quienes han vivido mis alegrías y tristezas,
 mostrando su comprensión y apoyo incondicional en todo momento para hacer
 realidad este sueño.

AUTORÍA

Las ideas expuestas en el presente trabajo de investigación, así como los resultados, discusión y conclusiones son de exclusiva responsabilidad del autor.

SERGIO RAMON PAREDES VARGAS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

(Contenido	Página
I.	INTRODUCCIÓN	17
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	20
2.1.	Que es la brucelosis.	20
2.2.	Antecedentes Históricos.	19
2.3.	Situación de la brucelosis en América latina y Ecuador.	20
2.4.	Etiología y especies.	22
2.4.1.	Etiología.	22
2.4.2.	Especies.	22
2.5.	Formas de contagio.	23
2.6.	Epidemiología y Factores de Riesgo.	25
2.6.1.	Epidemiología Animal.	25
2.6.2.	Epidemiología Humana.	25
2.6.3.	Factores de Riesgo.	26
2.7.	Patogenia y respuesta inmune.	28
2.7.1.	Patogenia.	28
2.7.2.	Respuesta Inmunológica.	29
2.8.	Diagnóstico y signos clínicos.	30
2.8.1.	Diagnóstico clínico.	30
2.8.2.	Diagnostico por serología.	30
2.8.3.	Pruebas De Diagnóstico Serológico.	31

2.8.3.1.	Prueba de aglutinación rápida en placa.	
	"Rosa de Bengala" (RB).	31
2.8.3.2.	Prueba de Antígeno Buferado en Placa. (BPAT).	32
2.8.3.3.	Prueba de Fijación de Complemento. (CFT).	32
2.8.3.4.	Prueba de aglutinación lenta en tubo, o de Wright. (SAT).	33
2.8.3.5.	Prueba de aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol"	
	(SAT-2-ME).	34
2.8.3.6.	Prueba de Rivanol.	35
2.8.3.7.	Prueba de coombs.	36
2.8.3.8.	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).	36
2.8.4.	Pruebas en leche.	37
2.8.4.1.	Prueba del anillo en leche. "Milk Ring Test" (MRT).	37
2.8.4.2.	Prueba de iELISA en leche. (iELISA-L).	38
2.8.5.	Diagnóstico En Humanos.	39
2.9.	Tratamiento.	39
2.9.1.	Tratamiento En Animales.	39
2.10.	Prevención y control.	40
2.10.1.	Prevención.	40
2.10.2.	Control.	42
2.11.	Profilaxis.	42
2.11.1.	Vacunas.	42
2.11.1.1.	Vacuna Brucela abortus Cepa 19.	43
2 11 1 2	Vacuna Brucela abortus RB51	44

III.	MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1.	Ubicación del lugar de investigación.	45
3.1.1.	Ubicación Política.	45
3.1.2.	Ubicación Geográfica.	45
3.1.3.	Ubicación Ecológica.	47
3.2.	Materiales.	47
3.2.1.	Materiales de Campo.	47
3.2.2.	Materiales de Oficina.	48
3.2.3.	Materiales de Laboratorio.	48
3.2.4.	Equipos.	49
3.2.5.	Reactivos.	49
3.2.6.	Soluciones y tampones.	50
3.3.	Metodología.	50
3.3.1.	Métodos Específicos del Manejo del Experimento.	51
3.3.1.1.	Procedimiento realizado para la Prueba de Anillo en Leche	
	(Milk Ring Test) (MRT).	52
3.3.1.2.	Procedimiento realizado para la Prueba	
	"Rosa de Bengala" (RB).	53
3.3.1.3.	Procedimiento realizado para la Prueba de SAT con EDTA.	54
3.3.1.4.	Procedimiento para la recolección de datos de los	
	factores de riesgo.	56
3.3.2.	Metodología para el último objetivo.	56
3.3.3.	Análisis Económico.	57

3.3.4.	Variables a Medir.	57
3.3.5.	Análisis Estadístico.	57
3.3.5.1.	Fundamento teórico, cálculo e interpretación del	
	coeficiente Kappa (κ).	58
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	60
4.1.	Resultados del análisis económico.	60
4.2.	Comparación de resultados.	61
4.2.1.	Comparación Resultados MRT, RB Y SAT-EDTA	
	porUPAs.	61
4.2.2.	Comparación RB vs SAT-EDTA.	64
4.2.3.	Comparación RB vs SAT-EDTA, Animales Vacunados.	65
4.2.4.	Prevalencia Aparente.	66
4.2.5.	Concordancia Entre MRT, RB y SAT-EDTA.	67
4.2.6.	Resultados De La Encuesta Aplicada En Las	
	Unidades De Producción Agrícola (UPAs).	70
4.2.6.1.	Especies animales existentes por UPA.	70
4.2.6.2.	Sistema reproductivo, empleado en las UPAs.	71
4.2.6.3.	Presencia de los abortos en las UPAs.	72
4.2.6.4.	Destino de los productos Abortados.	73
4.2.6.5.	Vacunación contra Brucelosis.	74
4.2.6.6.	Consumo de Leche.	75
4.2.6.7.	Conocimiento de la Enfermedad.	76
V.	CONCLUSIONES	78

VI.	RECOMENDACIONES	79
VII.	RESUMEN	80
VIII.	SUMARIO	81
IX.	BIBLIOGRAFIA	82
Χ.	ANEXOS	91

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°.	Contenido	Pagina
1	Especies de Brucellas.	24
2	Relación entre el grado de translucidez, dilución	
	del suero a investigar, y Unidades Internacionales.	
	(Prueba SAT-EDTA), según diluciones del suero	
	control positivo.	57
3	Valoración del coeficiente kappa. 59	
4	Costo en caso de presencia de la enfermedad.	61
5	Resultados Por UPAs.	63
6	Resultado RB (Prueba Tamiz) y SAT-EDTA	
	(Prueba confirmatoria) en el total de animales	
	muestreados.	65
7	Animales vacunados.	66
8	Concordancia entre MRT Y RB.	68
9	Concordancia Entre MRT Y SAT – EDTA.	69
10	Concordancia Entre RB Y SAT – EDTA.	70
11	Especies de animales existentes por UPA.	71
12	Procedencia del reproductor.	72
13	Presencia de Abortos.	73
14	Destino de los productos Abortados.	74
15	Vacunación contra Brucelosis	75

16	Persona vacunadora.	76
17	Forma de consumo de leche.	77
18	Conocimiento de la Enfermedad.	78

INDICE DE FIGURAS

Figura N°.	Contenido	Pagina
1	Macro localización del lugar de investigación	
	(República del Ecuador- Provincia deSanto	
	Domingo de los Tsachilas).	47
2	Micro localización del lugar de investigación.	
	Recinto El Cristal de Lelia, Km 20	
	Santo Domingo – Quito	47
3	Interpretación MRT	54
4	Procedimiento para realizar la prueba	
	SAT – EDTA	55

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°.	Contenido	Pagina
1	Encuesta Epidemiologica de Brucelosis Bovina.	92
2	Encuesta Epidemiologica de Brucelosis Humana.	95
3	Resultados a la prueba Rosa de Bengala.	98
4	Resultados a la prueba SAT - EDTA.	110
5	Reporte Fotográfico	127

I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis también conocida como "Fiebre de Malta", o "fiebre ondulante" en los humanos, y como "enfermedad de Bang" o "aborto contagioso", en animales es unainfección bacterianaaltamente contagiosacausada por bacteriasdel género Brucella(OIE, 2004).

La Brucelosis es considerada porla OrganizaciónMundial de la Salud(OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación(FAO) y la Organización Mundial de SanidadAnimal (OIE)como lazoonosis más persistente en todo el mundo, pertenece a la lista B, de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizoótias(MemishyBalkhy, 2004;OIE, 2004; Pappas*et al*, 2006.; Lucero*etal.*, 2008).

Posee una alta prevalencia en los llamados países en vías de desarrollo, donde las condiciones sanitarias son deficientes, los sistemas de explotación animal son de tipo tradicional, y no existen sistemas de seguimiento epidemiológico adecuado de la enfermedad (OIE, 2000a).

Los animales son el principal reservorio de *Brucella* spp y puede presentarse de forma asintomático o, manifestar una sintomatología que se traduce en abortos, infertilidad, esterilidad, muerte de terneros, disminución de la producción láctea, interrupción de programas de mejoramiento genético, depreciación de los animales enfermos y retraso del crecimiento (Miño y Pico, 2003).

Estudios realizados, sobre enfermedades en los bovinos, reportan que a nivel nacional el 38 % delos hatos están afectados con problemas sanitarios como: leptospirosis, brucelosis, mastitis subclínica y endopasitísmo (Erazo, 1999).

En la actualidad esta zoonosis ha tomado mucha importancia en Salud Pública ya que, cada día hay reportes de personas que han contraído la enfermedad, y se estiman que a nivel mundial se producirían entre 400 y 500 mil nuevos casos (Alvarez, 2001).

En el campo el mayor inconveniente que tienen el pequeño, mediano y grande ganadero es el desconocimiento de las enfermedades reproductivas que afectan a su ganadería, conocimientos necesarios para poder llevar un manejo técnico del hato y establecer un sistema planificado, con la utilización de tecnología, con el fin de alcanzar los objetivos de productividad, rentabilidad y sustentabilidad en su sistema de producción.

La razón principal que hizo imprescindible investigar sobre la brucelosis es porque se transmite de los animales al ser humano (zoonosis), además el gran número de abortos, nacimiento de crías débiles, disminución en la producción de leche, los cuales afectan directamente en la rentabilidad del productor ganadero. Es por esto que se realizó el Diagnóstico de Brucelosis Bovina en la Parroquia Alluriquin, Recinto El Cristal de Lelia, con el apoyo del Centro Internacional de Zoonosis (CIZ) de la Universidad Central del Ecuador y la Escuela Politécnica del Ejercito (ESPE).

Los objetivos que se persiguen con la siguiente investigación son:

Objetivo General:

 Determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina y los factores de riesgo zoonótico, en la Parroquia Alluriquin, recinto El Cristal de Lelia.

Objetivos Específicos:

- Determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina, mediante Diagnóstico serológico, (prueba de anillo en Leche (PAL), Rosa de Bengala (RB) y Seroaglutinación en tubo (SAT-EDTA)).
- Estudiar el potencial zoonótico de Brucelosis a través de encuestas.
- Estimar el porcentaje de casos y su repercusión económica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. QUE ES LA BRUCELOSIS

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de los animales, que se trasmite al hombre, causada por bacterias del género Brucella.

Las especies más atacadas por esta enfermedad son los bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y animales domésticos. Los productos alimenticios, de origen animal, son una de las principales fuentes de infección para el hombre (Álvarez, 2001).

2.2. ANTECEDENTES HISTORICOS

La brucelosis es una enfermedad conocida desde la época de Hipócrates, 400años AC, sin embargo, las primeras descripciones de ésta enfermedad las realizó Cleghornen 1751(Suárez, 2001).

En 1887, Bruce describió el primer miembro del género Brucella a partir de casos de fiebre de malta en la isla de este nombre. Más tarde le dio el nombre de Micrococcus melitensis. En 1905 pudo comprobarse que las cabras estaban generalmente infectadas y que el hombre contraía principalmente la enfermedad por consumo de leche de cabra infectada. En 1897, Bang, en Dinamarca, descubrió *B. abortus*en vacas abortadas y demostró que era la causa de la enfermedad, conocida con

el nombre de enfermedad de Bang, o aborto epizoótico del ganado bovino. En 1914, Traum descubrió *B. suis* en cerdas abortadas (Merchant y Packer, 1980).

En 1896, el veterinario danés BernhardLauritisBang, identificó la etiología del aborto epizoótico bovino y es, la Norteamericana Alice Evans quien comprobó la relación entre Brucella melitensis y el Bacterium abortus (Brucella abortus bovis) identificado por Bang (Miño y Pico, 2003).

Los países que han erradicado la brucelosis caprina son Estados Unidos en 1972, Chile en 1975, Panamá en 1989 y en Honduras en 1992. La Brucelosis Porcina ha sido erradicada en: Colombia en 1982, Belice en 1985, Chile en 1987, Honduras en 1992, Uruguay en 1945, sin embargo en este País se reintrodujo en 1991 a partir de animales importados. Algunos Países a nivel mundial han eliminado totalmente la brucelosis como por ejemplo: Inglaterra, Noruega, Suecia, Dinamarca y Finlandia. Los Países que han bajado la incidencia son: Japón, Nueva Zelanda, Australia y Alemania (Alvarez, 2001).

2.3. SITUACIÓN DE LA BRUCELOSIS EN AMÉRICA LATINA Y ECUADOR

La llegada de esta enfermedad a América Latina, se debió a la introducción de animales infectados, a través de los españoles durante el tiempo de la conquista. Se considera que esta zoonosis, estuvo por muchos años, concentrada en las zonas de mayor

producción pecuaria, y no fue sino hasta la mitad del siglo XX a partir del cual se produjo la diseminación por todo el continente. (Ruiz-Castañeda, 1954).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el continente americano existen cerca de 793,6 millones de habitantes, aproximadamente 4 de cada 10 de sus habitantes, residen en países o territorios en los cuales hay presencia conocida de la enfermedad en los bovinos y caprinos (Alvarez, 2001).

Según Acha&Pzyfres (1986), Argentina, México y Perú, son los países en los cuales se registra la mayor cantidad de casos.

En 1955, se realizó la primera notificación sobre la existencia de la brucelosis en la ganadería ecuatoriana (Salvestroni, citado porAlvarado, 1959).

La brucelosis bovina, esta difundida en todo el continente americano, con prevalencias de más del 5% en países como: Argentina, Venezuela, México, Chile, únicamente ha sido controlada en Uruguay, país en el cual se estima que le prevalencia es inferior al 0,5% (Gil &Samartino, 2000).

Existe poca información referente a las pérdidas económicas causadas por esta enfermedad, pero hay conciencia entre profesionales y ganaderos del país, de que las pérdidas son millonarias. Para 1967, se estimó una pérdida de 26000 terneros/año, a

causa de la brucelosis. (Laboratorio del Centro de Salud Pecuaria, 1970 citado por García-Carrillo, 1987).

2.4. ETIOLOGÍAY ESPECIES

2.4.1. Etiología

El género Brucella está formado por bacterias gramnegativas, que se observan al microscopio como cocobacilos de 0,5 a 0,7 μm de diámetro y de 0,5 a 1,5 μm de largo, intracelulares facultativos, inmóviles y aerobios, no formadores de esporas, muy resistentes a la desecación lo que contribuye a que puedan permanecer viables durante largo tiempo en el ambiente o en los alimentos, como leche, mantequilla y queso. La pasteurización destruye estas bacterias (Suárez, 2001).

2.4.2. Especies

En la actualidad, se conocen siete especies: (Cuadro 1), que presentan distinta virulencia humana, siendo las más virulentas Brucela *abortus y melitensis*. (Suárez, 2001).

Cuadro 1. Especies de Brucellas

Especie	Biotipo	Huésped Animal	Virulencia Humana
B. Melitensis	1-3	Cabras, ovejas, camellos	++++
B. abortus	1-6,9	Vacas, camellos, búfalos, yaks	++a+++
B. Suis	1-5	Cerdos	+
B. canis		Perros	+
B. ovis		Ovejas	
B. neotomae		Roedores	
B.pinnipediae y B. cetaceae		Ballenas Minke, delfines, marsopas, focas	

Fuente: http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=44728

2.5. FORMAS DE CONTAGIO

La principal forma de contagio se da entre los animales del propio hato, ya que un animal infectado, pueden excretar las bacterias a través de la orina, leche, placenta, secreciones vaginales o semen, productos abortivos, y de esta forma contaminar a otros animales del hato, así como también puede contagiarse por el ambiente (pastos, agua, establos) (Roux, 1979).

Una vaca infectada puede iniciar la eliminación de las bacterias, a partir del día 39 post-infección, a pesar de que la mayor descarga de gérmenes, se efectúa durante el parto o aborto; los animales pueden seguir excretando intermitentemente los

microorganismos, por largos períodos de tiempo (Herr*et al*, 1990; y Philippon*et al*, 1970, citados por Bercovich, 2000).

Se ha estimado que una cifra elevada de microorganismos, entre 10^{11} (López-Merino, 2002) y 10^{14} (Bowden, 1996) (*Brucella* bacterias por g de tejido cotiledonar) son eliminadas al medio ambiente, especialmente en el parto o aborto.

Loshumanos pueden contaminarse por:

- <u>Contacto directo</u> con animales o carcasas infectadas, productos abortados, o por accidentes en laboratorios (Gavazziet al, 1997).
- Ingestión de material contaminado como leche o productos lácteos no pasteurizados, o por la ingestión de alimentos inusuales como la sangre.
- Inhalación de aerosoles contaminados en camales o laboratorios
- <u>Vía conjuntival</u>, por contacto directo con la mano contaminada, cola de una vaca infectada o por aerosoles contaminados (Blood*et al.*, 1987; Nicoletti, 1980).
- <u>Auto inoculación</u>, al trabajar inadecuadamente con vacunas vivas (OPS, 1997)
- Vía sexual, a partir de un macho reproductor enfermo, o semen infectado (Carter, 1985; Acha&Pzyfres, 1986).

2.6. EPIDEMIOLOGIA Y FACTORES DE RIESGO

2.6.1. Epidemiología Animal

La infección se presenta en bovinos de todas las razas y edades, pero con mayor frecuencia en animales adultos. En terneros la enfermedad se adquiere en el útero y puede permanecer latente en el ternero durante toda su vida. Los terneros nacidos de hembras reactivas son serológicamente positivos debido a la ingestión de anticuerpos calostrales y suelen tornarse serológicamente negativos aún cuando posean la infección (Álvarez, 2001).

2.6.2. <u>Epidemiología Humana</u>

La brucelosis humana es junto con la tuberculosis, la enfermedad bacteriana específica más frecuente (El agro, 2000).

Las formas de infección humana están determinadas por la prevalencia de la enfermedad en los reservorios animales, comúnmente las infecciones por *B. abortus* y *B. Melitensis* suelen afectar preferentemente a grupos ocupacionales (Acha y Pzifres, 1986).

La enfermedad se transmite por dos mecanismos claramente definidos: por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación, o por vía indirecta, a

través de la ingestión de productos lácteos contaminados. El contacto con materiales infectados (abortos, placentas, sangre, estiércol, extracción de semen, etc.) es probablemente el mecanismo principal. La ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados de procedencia casera supone todavía un mecanismo importante de contagio en el Ecuador (Macías, 2003).

Aparecen documentadas transmisiones madre a hijo, durante el parto o a través de la leche materna, por esto se ha especulado con la posible transmisión interhumana, hecho que no ha podido ser demostrado (Díaz *et al*, 2001).

2.6.3. Factores De Riesgo

La prevalencia de esta enfermedad se ve influenciada por las condiciones socioeconómicas de cada país, región o localidad. En países en vías de desarrollo, en los cuales se utiliza un sistema tradicional de manejo de los animales y los sistemas sanitarios son deficientes o inexistentes, esta enfermedad afecta a la población en general, en tanto que en países desarrollados, esta enfermedad tiene un carácter profesional (López-Merino, 2002; OPS, 1997)

Entre las profesiones que poseen alto riesgo de contaminación, están las relacionadas con el campo o agro, médicos veterinarios, ingenieros agrónomos, trabajadores agrícolas, trabajadores de camales o mataderos, así como el personal de laboratorio (Mandell*et al*, 1997).

Según Acha&Pzyfres (1986), las infecciones causadas por *B. abortus* y *B. suis*, se relacionan con grupos profesionales, en tanto que *B. melitensis* afecta a la población en general.

2.7. PATOGENIA Y RESPUESTA INMUNOLÓGICA

2.7.1. Patogenia

Las especies de Brucella son patógenas intracelulares facultativas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos, y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos; esto justifica la naturaleza crónica de la infección ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas tanto fagocíticas como no fagocíticas (Moriyon y Goñi, 2001).

Los animales infectados son la principal fuente de dispersión de la bacteria, siendo las secreciones genitales o mamarias el principal vehículo de contaminación. Brucella tiene la capacidad de adherirse y penetrar las conjuntivas o la piel lesionada, luego es fagocitada por polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y por monocitos, sobreviviendo intracelularmente, de esta manera evade los mecanismos de defensa celulares y humorales (Halling&Boyle, 2002).

Luego de que los gérmenes ingresan al huésped por las diferentes vías, en la puerta de entrada son fagocitadas, y por vía linfática llegan a los ganglios linfáticos regionales (retromamario, parotídeo, submaxilares), para desde allí diseminarse a los otros órganos linfáticos como: bazo, ganglios ilíacos, desencadenando la bacteremia (Mellado, 1996).

2.7.2. <u>Respuesta Inmunológica</u>

Los anticuerpos o inmunoglobulinas son un tipo de proteínas plasmáticas producidas por el sistema inmune en respuesta a la presencia de sustancias extrañas potencialmente dañinas que pueda ser una amenaza para el organismo: como químicos, partículas de virus, esporas o toxinas de las bacterias. Se encuentran en el suero y tejidos del cuerpo. Existen 5 tipos: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM (Drutz *etal*, 2002).

Un animal infectado con *B. abortus* o vacunado con *B. abortus* Cepa 19, desarrolla básicamente cuatro tipos de inmunoglobulinas (Ig): IgG1, IgG2, IgM e IgA(Nielsen*etal*, 1992).

En un animal infectado la IgM es la primera en aparecer y alcanzar altos niveles para luego decaer en el tiempo. Por su lado la IgG1 aparece un poco más tarde pero su nivel es alto y se prolonga más en el tiempo. En un animal vacunado también hay respuesta de inmunoglobulinas IgG e IgM, pero a los 6 meses de aplicada la vacuna, ya no hay rastros de la IgG2 y solo quedaran IgM e IgG1 en bajos niveles (Nielsen*etal*, 1992).

Como resultado de una infección por bacterias gram negativas, las células del huésped se exponen principalmente a dos diferentes categorías de antígenos, el lipopolisacárido(LPS) y las proteínas (Bofill *etal*, 1996).

2.8. DIAGNÓSTICO Y SIGNOS CLÍNICOS

El diagnóstico de la brucelosis se realiza mediante la utilización de distintos métodos, los que de acuerdo con las características de la enfermedad, permiten determinar la situación de la misma en el hombre, los animales y en el medio ambiente, aunque cabe sospechar la presencia de brucelosis en caso de signos clínicos como abortos, la confirmación exige pruebas serológicas, seguidas de las pruebas de laboratorio prescritas para aislar e identificar a la bacteria (Mancera, 2001).

2.8.1. Diagnóstico Clínico

En el caso de la Brucelosis bovina el Diagnóstico clínico no es de utilidad, por ser una enfermedad que va a cursar sin ningún signo clínico que se pueda considerar patognomónico de la enfermedad, el único signo va a ser el aborto y según el análisis de laboratorio y los resultados de diversos proyectos de investigación llevados a cabo se sabe que existen muchas otras patologías de mayor prevalencia que pueden presentar el mismo signo clínico, como es el caso de la Leptospirosis y la Neosporosis. Aunque la presencia de abortos siempre es una alerta a tener en cuenta (Acha y Pzifres, 2003).

En toros la presencia de Epididimitis y Prostatitis son signos compatibles de la brucelosis, el semen de mala calidad también es característico de la enfermedad (Manual para las pruebas de diagnóstico, 2008).

2.8.2. <u>Diagnóstico Por Serología</u>

El diagnóstico serológico es de elección para diagnosticar Brucelosis Bovina, porque se han desarrollado técnicas de laboratorio de suficiente especificidad y sensibilidad a un bajo costo y rapidez de realización que las hace muy adecuadas a esta función. Existen numerosas pruebas para el diagnóstico serológico de brucelosis: aglutinación en placa, en tubos, antígeno bufferado en placa (BPA), Rosa de Bengala, fijación del complemento, 2 mercaptoetanol, rivanol, ELISA indirecto y de competición, prueba de anillo en leche, de hipersensibilidad, test de polarización (Mancera, 2001).

Se basan en el principio de aglutinación de los anticuerpos con antígenos a pH bajo y se dividen en dos tipos de pruebas: las pruebas primarias o de screening y las pruebas secundarias o de confirmación (Acha y Pzifres, 2003)

2.8.3. Pruebas De Diagnóstico Serológico

2.8.3.1. Prueba de aglutinación rápida en placa. "Rosa de Bengala" (RB)

También llamada prueba del antígeno tamponado por la capacidad de mantener estable un pH determinado. La prueba "Rosa de Bengala" (RB), es una reacción de aglutinación sobre lámina, que utiliza por un lado un antígeno constituido de una suspensión de $B.\ abortus$ (cepa 19) inactivadas y coloreadas por Rosa de Bengala, en un medio tamponado (pH 3,5 \pm 0,05), y por otro lado el suero a investigar (OIE, 2002a).

Fueron Pietz&Schilf quienes en 1967 desarrollaron este antígeno acidificado tamponado estable (Mancera, 2001).

Los resultados se reportan en forma cualitativa más no cuantitativa de aglutinación, por medio de cruces. Por su fácil realización, es muy útil como prueba de despistaje inicial o "screening" (Ariza, 2002; Doutre*et al*, 1977).

Esta prueba es capaz de detectar anticuerpos de tipo IgM e IgG, aunque el pH ácido, permite una alta detección de las IgG1, reduciendo las uniones inespecíficas con otras inmunoglobulinas (Rose &Roepke, 1957, citados por Bercovich, 2000).

2.8.3.2. Prueba de Antígeno Buferado en Placa. (BPAT)

La prueba BPAT es similar a las prueba de aglutinación rápida en placa RB, es una prueba de aglutinación con alta sensibilidad; utilizada como prueba tamiz. Emplea como antígeno una suspensión al 11 % de Brucella abortus cepa 1119-3 en solución salina y amortiguada con ácida láctico e hidróxido de sodio y pH de 3,8.(Miranda *et al*, 2001).

2.8.3.3. Prueba de Fijación de Complemento. (CFT)

Es una prueba de gran sensibilidad y especificidad, detecta cuantitativamente los anticuerpos producidos luego de la infección. Pese a su laboriosidad, es relativamente económica (Cobos *et al*, 2001).

Posee mayor sensibilidad analítica, ya que es capaz de detectar concentraciones muy bajas de IgG1, las cuales predominan en infección de brucellaspp (Saravi*et al*, 1995).

Utiliza un antígeno, preparado a partir de la cepa lisa de *B. abortus* cepa 19 o la 1119-3 (OIE, 2002a).

Esta prueba, es positiva más tardíamente que las prueba SAT, pero los títulos obtenidos en esta prueba, no se desvanecen conforme la enfermedad se hace crónica (Blood*et al*, 1987).

Debido a que pocas veces da reacciones no específicas, es útil para diferenciar los títulos de animales vacunados de aquellos realmente infectados, es por ello que se la utiliza para descartar los resultados falsos positivos obtenidos en la prueba RB (Blood*et al*, 1987).

2.8.3.4. <u>Prueba de aglutinación lenta en tubo, o de</u> Wright. (SAT)

Esta prueba, basada también en la aglutinación de una suspensión de *Brucella* inactivadas, enfrenta por un lado, una cantidad constante de antígeno, y por otro, diluciones crecientes de suero a investigar. Pone en evidencia las IgM, y en menos grado IgG, y puede ser empleada para detectar infecciones agudas, los títulos de los anticuerpos presentes en el suero, son reportados de forma cuantitativa (Allan, 1976; Beh, 1974; Levieux, 1974, citados por Bercovich, 2000; Terradas *et al*, 2001).

Dentro de las desventajas de esta prueba, se encuentran: reacciones cruzadas con otras bacterias, así como a la vacunación. En etapas crónicas de la infección existen resultados falsos negativos (Blood*et al*, 1987). Se puede observar el fenómeno de prozona (resultados negativos en las primeras diluciones, y positivos en los siguientes),

debido al exceso de Anticuerpos bloqueantes, que impiden la unión de los Ac aglutinantes con el Ag.

La prueba posee ventajas como: (1) ser la prueba que detecta lo más rápido posible los Ac aglutinantes, (2) gracias a la utilización de diluciones progresivas del suero, se puede apreciar el título completo de aglutinación de cada muestra, hecho que se diferencia de la prueba de Huddleson (rápida en placa) en que el título se limita a una dilución de 1/500 (Bercovich, 2000).

La incorporación de EDTA a la prueba SAT, disminuye las uniones inespecíficas (Garin*et al*, 1985).

Esta prueba tiene una sensibilidad del 69 % y una especificidad del 99,2% (Godfroid y Boelaert, 1995).

2.8.3.5. <u>Prueba de aglutinación en presencia de 2-</u> <u>mercaptoetanol" (SAT-2-ME)</u>

Esta prueba es una modificación de la prueba de aglutinación de Wright (SAT), en la que se emplea una solución de 2-mercaptoetanol. Este reactivo, tiene la finalidad de reducir las uniones disulfuro de las IgM (FAO & OMS, 1986).

La eficiencia de esta prueba, frente al ELISA para la detección de IgG, está en duda, pues se ha determinado que este reactivo a más de disminuir las IgM, también afecta las IgG (Ariza, 2002).

2.8.3.6. Prueba de Rivanol

En 1964 Anderson desarrolló la prueba de rivanol; es un método cuantitativo, rápido y complementario cuando resultan animales positivos a la prueba de Rosa de Bengala. Detecta anticuerpos del tipo IgG, relacionados con un estado de infección activo o con enfermedad crónica. Emplea células completas de *B. abortus*, donde el LPS es el antígeno inmuno dominante de la superficie de la Brucela lisa (Pachame, 2001).

Esta prueba posee una sensibilidad del 83 % y una especificidad del 93 % (Picazo y Fuertes, 2002).

El Rivanol (un colorante de acridina), precipita la albúmina y los anticuerpos de tipo IgM, los cuales predominan en el caso de una vacunación o infección primaria. En el sobrenadante permanecen los anticuerpos, de tipo IgG los cuales se encuentran en mayor cantidad en estimulaciones inmunogénicas posteriores (Leal y Martínez, 2001).

2.8.3.7. Prueba de coombs

Es una prueba útil para el diagnóstico de la brucelosis crónica, demuestra la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes de tipo IgG. Es una prueba muy laboriosa ya que, requiere centrifugación y lavados sucesivos de tubos negativos de la aglutinación y, la adición posterior de globulina anti-humana, seguido de incubación y de la lectura (Picazo & Fuertes, 2002).

2.8.3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Bautista y Ochoa, (2001)Señalan que la utilización de las enzimas como una señal de amplificación, fue implementada al inicio de 1970. La técnica fue descrita en 1971 por Engall y Perlman (Suecia) y Van Weemen y Schurs (Holanda). La aplicación y versatilidad de esta técnica, fue facilitada por el diseño de las microplacas ya que permitieron tener un sistema de amplificación para demostrar la detección de pequeñas cantidades (nanogramos) del complejo Ag-Ac. El ELISA por su alta sensibilidad y especificidad, ha llegado a ser la técnica de inmuno ensayo más utilizada.

De forma similar a las pruebas convencionales, para el diagnóstico de la brucelosis bovina, el ELISA no puede distinguir entre los anticuerpos producidos por la cepa vacunal B-19 y los producidos por una infección.

Únicamente se recomienda el uso de las pruebas ELISA que utilizan el LPS liso de *B. abortus*. El ELISA indirecto (iELISA), específico para detectar IgG del tipo 1, arroja resultados casi exactamente equivalentes a los obtenidos en la prueba de fijación de complemento. Esta prueba, puede ser utilizada, para analizar muestras de suero o de leche (OIE, 2002b).

La sensibilidad de esta prueba oscila entre 93 % y 97 %, y la especificidad en 98 % (Picazo y Fuertes, 2002).

2.8.4. Pruebas en leche

2.8.4.1. Prueba del anillo en leche. "Milk Ring Test" (MRT)

La prueba de anillo de leche o "Ring Test", depende de la presencia de las IgA e IgM, las cuales inducen la formación de un anillo coloreado (azul), después de la incubación de la muestra de leche con el antígeno coloreado con hematoxilina (Collin, 1976, citado por Bercovich, 2000).

El MRT es una técnica satisfactoria y poco costosa. Se puede vigilar la presencia de brucelosis en una determinada área geográfica, mediante la aplicación de esta técnica. Las muestras de leche, pueden ser recolectadas de cada finca o, de la planta pasteurizadora. La confiabilidad de los resultados, están íntimamente relacionados a la

cantidad de muestra, pues el factor de dilución (muestra individual positiva, diluida en un tanque), juega un papel importante en el resultado (Blood*et al*, 1987; OIE, 2002b).

Cuando las muestras a analizar, contienen únicamente de la crema, o han sido mal conservadas, la lectura es difícil, y el porcentaje de falsos negativos aumenta (Mancera *et al*, 2001).

Las aglutininas pueden ser destruidas por el calor, por lo que la prueba no debe realizarse en leche pasteurizada. Las aglutininas también se destruyen por agitación violenta de la leche (Mancera *et al*, 2001).

Cuando esta prueba, arroja resultados positivos, la detección del estado de infección del rebaño, se lo debe realizar a través de pruebas serológicas individuales, en todos los animales.

2.8.4.2. Prueba de iELISA en leche. (iELISA-L)

El ELISA indirecto en leche (iELISA-L), utilizado para detectar anticuerpos de tipo IgG1 en la leche, ha demostrado ser más sensible que las prueba de MRT (Bercovich&Taaijke, 1990, citados por Bercovich, 2000). Sin embargo esta prueba también es influenciada por la concentración de anticuerpos disueltos en la muestra de leche, y el estado de conservación de la misma. Pueden existir resultados falsamente

negativos cuando las muestras analizadas contienen gran cantidad de calostro (Sutherland *et al*, 1986, citados por Bercovich, 2000).

2.8.5. <u>Diagnóstico En Humanos</u>

Se basa en la sospecha clínica de la enfermedad, luego de lo cual se debe realizar la confirmación por la demostración de los anticuerpos en la sangre del paciente, y/o, por la demostración de la Brucela spp. Debido a que los síntomas de esta enfermedad son inespecíficos, dificulta el establecimiento del diagnóstico, únicamente basado en la clínica (Mellado, 1996).

Es por ello que se considera de vital importancia que el médico clínico, obtenga por medio de un interrogatorio detallado: la profesión del paciente, exposición y/o contacto con animales, viajes a zonas enzoóticas a la enfermedad, ingestión de alimentos contaminados (Mandell*et al*, 1997).

2.9. TRATAMIENTO

2.9.1. <u>Tratamiento En Animales</u>

No existe tratamiento, *Brucella abortus* es una bacteria intracelular facultativa, lo que le confiere cierta protección ante la presencia de antibióticos dentro del hospedador, por lo que se considera una <u>enfermedad incurable</u>, los esfuerzos se orienta a la

prevención y erradicación de la enfermedad. En consecuencia, la prescripción, es que los hatos sospechosos deben ser inspeccionados a intervalos regulares hasta que todos los animales resultan negativos. Los animales positivos deben ser descartados. La vacunación contra la Brucelosis Bovina aplicada de manera sistemática y masiva elimina el 80% de la enfermedad, según lo demuestra la experiencia nacional e internacional (Bauza, 1999).

2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL

2.10.1. Prevención

Las medidas de prevención frente a la enfermedad, deben ir encaminadas a eliminar, por una parte las situaciones que impliquen riesgo de contagio y a favorecer por otra, la inmunidad.

Las medidas básicas de prevención que deben implementarse según Blasco (2001) son:

Observación de las hembras preñadas, sólo el 20% de los abortos en ganado bovino, son producidos por brucelosis. El aborto, se produce en los primeros momentos de la infección. En el caso de que el ganado ofrezca síntomas prodrómicos de aborto o parto, se le debe separar el resto de los animales.

- El material abortivo se destruirá con cal viva y los instrumentos y superficies se desinfectarán.
- Cuarentena de animales se hará cuando entren animales nuevos procedentes de otras explotaciones o de mercados. Lo ideal es completar las granjas con animales descendientes de las mismas o bien con los adquiridos de granjas libres de infección.
- Sistema rotacional de pastos, se ha comprobado que el incremento en la concentración de ganado en un territorio determinado aumenta la posibilidad de contagio. Se deben separar los animales de distinta edad y condición.
- Sacrificio de animales enfermos y entierro de abortos, nunca se deben echar restos
 de abortos y animales muertos a los perros para su alimentación, ni tampoco se
 deben abandonar en el campo o enterrarlos sin previo tratamiento. Los restos se
 deben tratar primero con cal viva o incinerarlos y a continuación depositarlos en una
 fosa común cubriéndolos con tierra.
- Supresión de las cubriciones temporalmente en presencia de infección, las hembras abortadas se dejan sin cubrir seis meses y se cubren posteriormente mediante inseminación artificial, ya que el semental puede ser portador contaminante a través del coito.
- Utilización de ropa protectora: botas, mandiles; guantes, mascarilla, gafas protectoras.
- No consumir leche ni productos lácteos sin pasteurizar, sino se cumplen las garantías sanitarias legalmente vigentes.

Desinfección de todas las personas a la entrada y salida de la explotación, se debe a
que el hombre actúa como transmisor de la enfermedad al visitar distintas
ganaderías, por lo que se deben cumplir adecuadas medidas higiénico-sanitarias.

2.10.2. <u>Control</u>

El control de la brucelosis se basa fundamentalmente en:

- Incrementar la inmunidad de la población, lo cual se logra con el uso de vacunas.
- Establecer un sistema de detección de animales infectados y el descarte de los mismos.
- Implementar medidas de manejo y de higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias presentes en el ambiente.
- Mantener en forma estable la producción y la economía del establecimiento (Miño y Pico,2003)

2.11. PROFILAXIS

2.11.1. <u>Vacunas</u>

En los programas de vacunación, se utilizan una serie de vacunas entre las que se encuentran las cepas B-19 y RB-51 (gérmenes vivos), las más utilizadas y t 45/20 y H38

(inactivadas) por vía subcutánea y actualmente se está ensayando la vía conjuntival (Tryland *etal*, 1999).

2.11.1.1. Vacuna Brucella abortus Cepa 19

La cepa vacunal *B. abortus* (cepa 19) fue aislada en 1923 por Buck, su poder protector en bovinos se demostró en 1930 (Bowden, 1996).

La vacunación debe realizarse en terneras de los seis a ocho meses de edad como dosisúnica, estoconfiere inmunidad duradera, y no se recomiendan dosis posteriores, también se puede aplicar a los animales de mayor edadsin una respuesta duradera de anticuerpos, puede provocar abortos (Blasco, 2001).

La vacuna cepa 19, puede producir algunos efectos secundarios, particularmente cuando se aplica en animales adultos. Produce un 2 % a 3 % de abortos e infecciones mamarias persistentes con excreción activa en leche, además puede provocar infección en el hombre tras una inoculación accidental (Manual para las pruebas de diagnostico, 2008).

La reducción de la dosis inoculada, disminuye la duración de la intensidad de la respuesta serológica, y por ende disminuye en el grado de protección conferido (Blasco, 2001).

2.11.1.2. <u>Vacuna Brucella abortus RB51</u>

Este tipo de cepas, no induce reacciones serológicas cruzadas en los tests diagnósticos clásicos que utilizan antígenos en fase lisa. La cepa viva RB51, es un mutante, derivado de la cepa lisa virulenta *B. abortus* 2308; esta cepa induce una inmunidad frente a *B. abortus* en ratones y ganado bovino, sin producir ninguna interferencia en las pruebas clásicas de diagnóstico serológico, al no inducir anticuerpos frente al LPS, en los animales vacunados. Caracterizada por su escasa capacidad de inducir placentitis, abortos y localizaciones mamarias, también induce inmunidad frente a un amplio rango de especies de *Brucellas* (Manual para las pruebas de diagnóstico, 2008).

La vacunación debe realizarse en terneras de los seis a ocho meses de edad con revacunación a los 12 meses para que confiera inmunidad duradera.

En México uno de los experimentos de protección realizados en bovinos y en condiciones controladas, frente a un desafío con la cepa virulenta *B. abortus*, la vacuna RB51 confirió un nivel de protección de alrededor del 87% en aproximadamente siete a trece meses; algo inferior al conferido por la cepa 19 que fue del 95% (Blasco, 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. <u>Ubicación Política</u>

El presente trabajo se realizó en la Parroquia Alluriquin, Recinto El Cristal de Lelia, km 20 de la Vía Santo Domingo-Quito, margen derecho a 10 km de la vía Principal.

Provincia: Santo Domingo de los Tsachilas

Cantón: Santo Domingo

Parroquia: Alluriquin

Sitio: Recinto El Cristal de Lelia

3.1.2. <u>Ubicación Geográfica</u>

Geográficamente el área de investigación está situada en las siguientes coordenadas.

Longitud: 79° 01' 24" oeste

Latitud: 00° 10' 38" sur

Elevación: 1 100 msnm

A continuación se presenta la macro y micro localización del lugar de investigación ilustrada en las siguientes figuras.



Figura 1. Macro localización del lugar de investigación (República del Ecuador- Provincia de Santo Domingo de los Tsachilas).

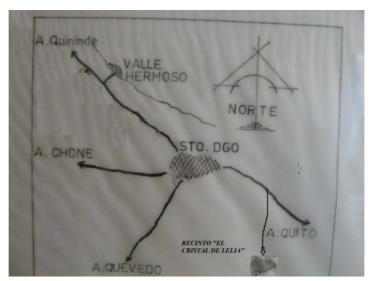


Figura 2. Micro localización del lugar de investigación. Recinto El Cristal de Lelia, Km 20 Santo Domingo – Quito

3.1.3. <u>Ubicación Ecológica</u>

Según la Estación Científica Río Guajalito que es la más próxima al área del ensayo, los datos climatológicos promedios son:

Zona de vida: Bosque Muy Húmedo Subtropical

Altitud: 1 100 msnm

Temperatura promedio: 21 °C

Precipitación anual: 2 343 mm

Topografía: Media

Humedad relativa: 87 %

Textura: Franco

3.2. MATERIALES

3.2.1. Materiales de Campo

Los materiales de campo que se utilizaron en la investigación fueron los siguientes:

Encuestas,
 Cámara fotográfica,

Marcador,Tubos vacutaimer,

Libro de Campo,
 Copa para vacutaimer,

Guantes quirúrgicos,
 Frascos de vidrio,

Caja refrigerante,Alcohol,

Botas,Papel higiénico,

Jeringas,Algodón.

- Agujas vacutaimer,

3.2.2. <u>Materiales de Oficina</u>

Computadora,Tinta de Impresora,

FormulariosLápiz,

oficiales(Encuestas), – Borrador,

Esferográficos,Impresora.

- Resma de Papel,

3.2.3. <u>Materiales de Laboratorio</u>

Mandil,Agitadores,

Leche,
 Tubos de vidrio para prueba de

Suero sanguíneo,
 MilkRing Test,

Gradillas,Pipetas automáticas,

precipitación, tubos de ensayo, – Placas alveoladas de vidrio,

pipetas), – Cuentagotas (30 μl),

- Vortex,
- Placas de microtitulación con fondo cónico "U",
- Sistema de espejo de aumento para la lectura de las placas de microtitulación.

3.2.4. Equipos

- Centrífuga,

- Aglutinoscopio,

- Refrigeradora,

Estufa.

3.2.5. Reactivos

- Antígeno Rosa de Bengala 8% concentración celular,
- Antígeno para MilkRing Test, suspensión de *Brucella abortus* cepa 1119-3 de
 Weybridge, inactivada, y coloreada con hematoxilina,
- Suero control positivo y negativode la casa Synbiotics
- Antígeno SAT de la casa Synbiotics (Antígeno para el diagnóstico serológico de brucelosis, por aglutinación lenta en tubo, Sero-aglutinación de Wright),
- Cloruro de sodio,
- Fenol, cristales.

3.2.6. Soluciones y tampones

Tampón SAT

- Cloruro de sodio 0,85% (w/v)
- Fenol 0,5% (w/v)
- Agua destilada (ajustar a 1 litro)

Solución de antígeno

- Antígeno 5% (v/v) 50ml
- Tampón SAT 950ml

3.3. METODOLOGÍA

Para determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina y los factores de riesgose analizaron 19 UPAs, localizadas dentro del Recinto Cristal de Lelia, Parroquia Alluriquin (Provincia de Santo Domingo, Ecuador). Según el tamaño, las UPAs se distribuyeron de la siguiente forma: 8 (42,11%) fueron consideradas como pequeñas (UPAs-P) (1 - 20 bovinos) y 11 (57,89%) fueron de tamaño mediano (UPAs-M) (de 21 - 70 bovinos). No existieron UPAs consideradas como grandes (UPAs-G) (de 70 Bovinos en adelante).

En primer lugar se obtuvo una muestra de leche por UPA, para realizar la prueba de anillo en leche (PAL). El análisis de esta prueba se realizó en el laboratorio de la Escuela Politécnica del Ejercito (IASA- II)

Debido a que solamente una UPA resulto positiva a PAL, se realizaron pruebas serológicas a toda la población de bovinos (secas, terneras, vaconas yreproductores). Para lo cual se obtuvo una muestra de sangre caudal por cada bovino, se utilizó la prueba RB, como prueba primaria o de tamiz, y SAT-EDTA como prueba secundaria.

En la zona de estudio se evidenció la presencia de 26 animales vacunados a brucelosis, ya que poseían un arete colocado por AGROCALIDAD, por lo que se consideróeste como otro grupo vacunado.

Debido a que solamente resulto un animal positivo en toda la población no se realizóun diagnóstico bacteriológico.

Para analizar los factores de riesgo se realizaron encuestas aplicadas a los propietarios en cada finca (Anexo 2).

3.3.1. Métodos Específicos del Manejo del Experimento

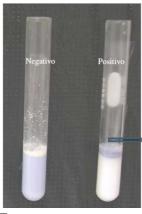
Para determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina y los factores de riesgo se realizó el siguiente procedimiento.

3.3.1.1. Procedimiento realizado para la Prueba de Anillo en Leche (Milk Ring Test) (MRT)

Las muestras de leche fueron tomadas tan pronto se terminó el ordeño, primeramente se homogenizo la leche en cada tanque, luego se tomó una cantidad adecuada de leche(2 muestras) por UPA y se colocó en un frasco de vidrio. Inmediatamente se procedió a identificar correctamente el frasco de vidrio con la muestra de leche y se la transportórefrigerada en clúster hasta el laboratorio.

- Las muestras de leche se las almacenócon un mínimo de 48 horas
- Sueros y antígeno (Ag), se los colocó a temperatura ambiente una hora antes de la prueba
- Se homogenizaron las muestras de leche
- Se colocó en tubo de ensayo, 1 ml de: leche a investigar
- Se Distribuyó 50 ul de antígeno en cada tubo y se homogenizó
- Se procedió a incubar a 37°C por 1 hora
- Finalmente se observó del anillo y el fondo. La primera lectura se realizó a los 30 minutos y la lectura final a los 60 minutos.

Figura 3. Interpretación MRT



Interpretación

Lectura	Color del anillo y de la columna de leche					
-	Anillo de crema color blanco La columna de leche color lila y/o azulada					
+	Anillo y la columna de leche con la crema del mismo color (morado o azulino suave)					
++	Anillo de crema el color (morado o azul) es más pronunciado que el resto de la columna de leche					
+++	Anillo de crema de color morado o azul marcado; pero la columna de leche se observa con algo de color.					
++++	Anillo de crema morado o azul intenso, la columna de leche es de color blanco.					

Fuente: G.C. Alton. Lois M. Jones, R.D. Angus, J.M. Verger (1988)

El análisis de esta prueba se realizó en el laboratorio de la Escuela Politécnica del Ejercito (IASA- II)

3.3.1.2. Procedimiento realizado para la Prueba "Rosa de Bengala" (RB)

Las muestras de sangre se extrajeron sin anticoagulante en tubos al vacío por punción venosa coccígea. Inmediatamente después que se obtuvo la muestra de sangre, secolocó en plano inclinado para aumentar la superficie de coagulación. Se identificó y se llevó al laboratorio.

- Las muestras se centrifugaron para obtener el suero.
- Lossueros y antígeno (Ag), se los colocó a temperatura ambiente
- Se agregó sobre una placa de vidrio, 30 μl de:
 - sueros controles
 - sueros a investigar

- Se agregó una gota (30 μl) de antígeno
- Se mezcló, y se agitó por 4 minutos
- Lectura (observación de aglutinación)

El análisis de esta prueba se realizó en la Universidad Central del Ecuador, en el Centro Internacional de Zoonosis. Quito- Ecuador.

3.3.1.3. <u>Procedimiento realizado para la Prueba de SAT</u> con EDTA

Un sistema de diluciones del suero a investigar así como de los sueros controles (negativo y positivo), se colocaron sobre la microplaca de titulación, de la siguiente forma (Figura 4).

Figura 4. Procedimiento para realizar la prueba SAT - EDTA

Dance						('úpulas					
Pasos	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 (100 ul)		, 0	D Q	D C	D C	D C	o a	0 0	D C	0 0	D C	D
Paso de dilución		100	D Q	D Q	D Q	D Q	100	D Q	D Q	100	D Q	100
Paso de dilución (100 ul)	•				100	100	100				OR YES	KT.

Se realizó una prueba de rutina que consiste en realizar tres diluciones. Se colocaron 168µl de Tampón SAT en el primer pocillo (micro – cúpula) y 100 ul en el pocillo dos y tres. Seguidamente se agregó 32µl de suero problema en el pocillo uno.

Luego se procedió a mezclar el contenido del pocillo uno (dilución 1/25). 100 ul del contenido se colocaron en el pocillo dos, y este a su vez se colocó en el pocillo tres para obtener la siguiente dilución (dilución 1/50).

En el caso de efectuar la prueba complementaria para titulación de los Ac, las diluciones serán realizadas hasta la cúpula doce (dilución 1/25600).

Finalmente se adicionó 100 µl de solución de Ag a cada uno de los pocillos, y se incubaron a 37°C por 20 horas, en una caja plástica con ambiente húmedo.

La interpretación de resultados se realizó utilizando el dispositivo para lectura de microplacas de titulación, provisto de un espejo en la parte inferior.

- 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.

Cuadro 2. Relación entre el grado de translucidez, dilución del suero a investigar, y Unidades Internacionales. (Prueba SAT-EDTA), según diluciones del suero control positivo.

Dilución del	Porcentaje de translucidez de la muestra					
suero	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			

UI: Unidades Internacionales de aglutinación

El análisis de esta prueba se realizó en la Universidad Central del Ecuador, en el Centro Internacional de Zoonosis. Quito- Ecuador.

3.3.1.4. <u>Procedimiento para la recolección de datos de los</u> factores de riesgo

Los factores de riesgo se realizaron mediante encuestas aplicadas alos propietarios de cada UPA(Anexo 1 y 2).

3.3.2. Metodología para el último objetivo

La difusión de los resultados se la realizará a través de trípticos, y estarán dirigidos a estudiantes afines a la pecuaria, ganaderos, docentes, estos resultados

contendrán un resumen de la tesis donde se explicarán los detalles obtenidos de la investigación, realizada.

3.3.3. Análisis Económico

Una vez finalizada la investigación se realizó el análisis económico mediante el costo que significaría en caso de presentarse la enfermedad en comparación con el costo que significaría prevenir la enfermedad.

3.3.4. Variables medidas

La presente investigación es un estudio epidemiológico transversal y causal dado que se determinó la prevalencia de la enfermedad en un momento establecido y luego se analizó la presencia de la infección con diversos factores de riesgo zoonótico y sin la manipulación de las variables estudiadas.

3.3.5. Análisis Estadístico

Se realizará un análisis estadístico descriptivo cualitativo de los resultados empleando cuadros estadísticos para la presentación de los resultados, los mismos que caracterizan la población estudiada.

Se realizó el análisis de concordancia Kappa para estimar las concordancias entre las pruebas diagnósticas.

3.3.5.1. <u>Fundamento teórico, cálculo e interpretación del</u> coeficiente Kappa (κ)

El coeficiente kappa refleja la concordancia inter-observador y puede ser calculado en tablas de cualquier dimensión, siempre y cuando se contrasten dos observadores. El coeficiente kappa puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de $\kappa = 0$ refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar (López y Pita, 1999)

Cuadro 3. Valoración del coeficiente kappa

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00 0,01 - 0,20 0,21 - 0,40 0,41 - 0,60 0,61 - 0,80 0,81 - 1,00	Pobre (Poor) Leve (Slight) Aceptable (Fair) Moderada (Moderate) Considerable (Substantial) Casi perfecta (Almost perfect)

Fuente: Landis y Koch, 1977

$$\kappa = \begin{array}{l} \frac{[(\Sigma \; concordancias \; observadas) \; - \; (\Sigma \; concordancias \; atribuibles \; al \; azar)]}{[(total \; de \; observaciones) \; - \; (\Sigma \; concordancias \; atribuibles \; al \; azar)]} \end{array}$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la investigación realizada en el Recinto El Cristal de Lelia sobre la prevalencia de Brucelosis, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

En virtud de las múltiples dificultades encontradas por el manejo tradicional de los animales en las UPAs, como por ejemplo: la falta deregistros, falta de instalaciones (mangas), imposibilito hacer un seguimiento a los animales; además la falta de colaboración de uno de los propietarios de la zona, dicha UPAconsiderada como pequeñanose incluyó en la investigación.

4.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ECONÓMICO

Según comunicaciones personales, se estimaron los costos que involucra la existencia de brucelosis en una explotación pecuaria.

Cuadro 4. Costo en caso de presencia de la enfermedad

	Días de		
Detalle	producción	Costo/nivel de finca	Costo
Descarte del animal			900,00
Producción 6 lt promedio	300	0,35	630,00
Ternera			200,00
Tratamiento post-abortivo			100,00
TOTAL			1830,00

Fuente: Gómez, G. 2012. Brucelosis (Entrevista). Santo Domingo. Escuela Politécnica del Ejército

El costo de inversión para la vacunaciónaplicando la vacuna comercial Antibang Cepa 19 es de 2,20 dólares.

Además según Ron (2011) funcionario del CIZ, quiencontrajo Brucelosisinformó que los costos de tratamiento son de 250 dólares incluidos: el diagnóstico inicial, tratamiento y diagnóstico de seguimiento.

En el cuadro 4se puede observar que es más económico prevenir la enfermedad mediante la vacunación antes que su tratamiento (descarte del animal, etc). Y a su vez, por medio de la misma evitar el contagio de la enfermedad hacia los propietarios de las UPAs.

4.2. COMPARACIÓN DE RESULTADOS

4.2.1. Comparación Resultados MRT, RB Y SAT-EDTA por UPAs

De 19 UPAs muestreadas una resultó positiva a MRT, representando el 5,26% de la población, pero al muestrear esta UPA por la totalidad de animales, ningún animal fue positivo a RB y SAT-EDTA. Además es importante mencionar que una muestra resultó positiva a RB y SAT-EDTA, pero esta fue negativa a MRT.

Cuadro 5.Resultados Por UPAs

	MRT	RB*	SAT-EDTA*
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	+	+
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	+	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-

^{*}MRT (Milk Ring test) *RB (Rosa de Bengala)*SAT-EDTA (Seroaglutinación lenta en tubo - EDTA)

Algunos de los factores que pueden haber incidido en el resultado positivo son una leche anormal (como el calostro), la presencia de mastitis o leche muy baja en grasa.

Los glóbulos grasos presentes en la leche juegan un papel importante en esta prueba, pues en muestras sin suficiente cantidad de ellos, los resultados pueden ser

^{*}Se considera UPAs positivas si al menos un animal presenta serología positiva a cualquier prueba MRT, RB, SAT-EDTA.

falsamente negativos (Petterson&Deyoe, 1976; Sutra, 1986, citados por Bercovich, 2000).

Según Mancera (2001), la prueba de anillo en leche es una prueba tamiz o screning, que da un indicio que en este predio se debe realizar una investigación más profunda,no indica a los animales reaccionantes positivos, solo indica que en esta muestra de leche se incluyó la leche de por lo menos un animal aparentemente positivo.

El resultado positivo a RB y SAT-EDTA y negativo a MRT, ocurrió porque al momento de tomar la muestra de leche ese animal no se encontraba lactando ya que se hizo un seguimiento y se determinó que ese animal aún era ternera. Este es un problema que tiene MRT ya que no ingresa toda la población en el muestreo en leche (terneras, secas y otras).

Existe la presencia de resultados falsos negativos en las pruebas serológicas arriba mencionadas, relacionados con casos iníciales o tardíos de la infección, en tanto que los resultados falsos positivos, se deben a la presencia de anticuerpos originados por: vacunación, reacciones cruzadas, así como falla en la ejecución de las pruebas, al reportar como positiva por ejemplo, una muestra que únicamente contiene grasa (Blood*et al.*, 1987).

4.2.2. Comparación RB vs SAT-EDTA

Cuadro 6.Resultado RB (Prueba Tamiz) y SAT-EDTA (Prueba confirmatoria) en el total de animales muestreados.

PRUI	PRUEBAS DIAGNOSTICAS					
RB	RB SAT-EDTA TOTAL					
+	+	1				
+	-	0				
-	+	0				
-	-	533				
T	TOTAL					

^{*} RB (Rosa de Bengala), SAT-EDTA (Seroaglutinación lenta en tubo – EDTA)

De 534 sueros sanguíneos analizados uno resultó positivo a RB y confirmado con SAT-EDTA.

En el cuadro 6 se observa que un animal resultó positivo a RB y SAT –EDTA, esto se debe a que las dos pruebas tienen el mismo principio que es la detección de aglutininas, es decir la presencia de anticuerpos de tipo IgG e IgM respectivamente.

4.2.3. Comparación RB vs SAT-EDTA, Animales Vacunados

Cuadro 7. Animales vacunados

	PR	PRUEBA TAMIZ - RB				
PRUEBA		+	-	_		
CONFIRMATORIA	+	1	0	1		
SAT-EDTA	-	0	25	25		
TOTAL		1	25	26		

En la zona de estudio se evidencio la vacunación, desde que se encontraron animales con aretes, colocados por AGROCALIDAD, los mismos que utiliza vacuna Cepa-19 para prevenir Brucelosis. De 26 animales vacunados uno dio positivo a RB y SAT-EDTA.

Los animales vacunados con Cepa-19 producen anticuerpos vacúnales que interfieren en las pruebas diagnósticas utilizadas(Blood*et al.*, 1987).

La razón por la que casi la totalidad de animales salió negativo se puede atribuir a problemas con el manejo de la vacuna; por ejemplo se constató que no se maneja una cadena de frío adecuada, los animales son vacunados a diferentes edades, no se maneja registros, la dosis vacunal es incorrecta y también se puede mencionar la calidad de la vacuna. Tal como lo demuestran análisis realizados en el CIZ, la concentración normal de una vacuna debe ser 60 x 10⁹, pero en una vacuna comprada directamente en un

almacén veterinario, presentó una concentración cerca de 200 veces menos gérmenes de lo indicado (3.3×10^8) . (Ron, 2011).

4.2.4. Prevalencia Aparente

La prevalencia aparente corresponde a los animales positivos descubiertos luego de la utilización de una prueba diagnóstica.

PREVALENCIA APARENTE A NIVEL DE UPA

P= 1/19 * 100 = 5,26 %

PREVALENCIA APARENTE A NIVEL DE ANIMALES

P = 1/534 * 100 = 0,19 %

Laprevalencia reales la cifra total de animales infectados (verdaderos positivos + falsos negativos), en tanto que la prevalencia aparente corresponde a los animales positivos descubiertos luego de la utilización de una prueba diagnóstica. (Wade*et al*, 1996).

67

La prevalencia no puede ser considerada como real ya que no se conoce el estatus de vacunación de la zona de estudio, pero la presencia de títulos en las pruebas da un indicio de que posiblemente este ingresando esta enfermedad a la zona.

4.2.5. Concordancia Entre MRT,RB y SAT-EDTA

Cuadro 8. Concordancia entreMRT Y RB

_			RB		
-		+	-		
MRT -	+	0	1	1	
WIK I	-	1	17	18	
Total		1	18	19	

Concordancia Esperada

$$0 + 17 = 17/19 = 0.90$$

Concordancias Atribuibles al azar

$$+ 1 * 1 = 1/19 = 0.05$$

$$-18*18 = 324/19 = 17,05$$

$$0.05 + 17.05 = 17.10$$

$$K = (17 - 17,10) / (19 - 17,10) = -0,053$$

No hay concordancia entre MRT y RB, ya que MRT es una prueba en leche que detecta anticuerpos de tipo IgA e IgM, por el contrario RB es una prueba serológica de aglutinación que detecta anticuerpos de tipo IgG, y no depende de la grasa presente.

Cuadro 9. Concordancia Entre MRT Y SAT – EDTA

		SAT	- EDTA	Total
		+	-	
MRT	+	0	1	 1
WIKI	-	1	17	18
Total		1	18	19

Concordancia Esperada

$$0 + 17 = 17/19 = 0,90$$

Concordancias Atribuibles al azar

$$+ 1 * 1 = 1/19 = 0,05$$

$$-18*18 = 324/19 = 17,05$$

$$0.05 + 17.05 = 17.10$$

$$K = (17 - 17,10) / (19 - 17,10) = -0,053$$

De igual manera no se encontró concordancia entre MRT y SAT – EDTA, ya que MRT es una prueba en leche que detecta anticuerpos de tipo IgA e IgM, por el contrario SAT – EDTA es una prueba serológica de aglutinación lenta en tubo que detecta anticuerpos de tipo IgM, y no depende de la grasa presente.

Cuadro 10. Concordancia Entre RB Y SAT – EDTA

		SAT	Total	
		+	-	
DD	+	1	0	1
RB	_	0	533	533
Total		1	533	534

Concordancia Esperada

$$1 + 533 = 534 = 1$$

Concordancias Atribuibles al azar

$$+ 1 * 1 = 1/534 = 0,00187$$

$$0,00187 + 532 =$$
532,00187

$$K = (534 - 532,00187) / (534 - 532,00187) = 1$$

La concordancia es casi perfecta entre RB y SAT – EDTA, es decir la concordancia observada es igual a la concordancia atribuible. Esto se debe a que las dos son pruebas de aglutinación, RB detecta anticuerpos de tipo IgG y SAT – EDTA detecta anticuerpos de tipo IgM.

4.2.6. Resultados De La Encuesta Aplicada En Las Unidades De Producción Agrícola (UPAs)

4.2.6.1. Especiesanimales existentes por UPA

Como indica el cuadro 11, Todas las UPAs poseen ganado lechero como actividad principal, de las cualesochotambién manejan Ganado de carne, nueve manejan porcinos y una posee Ovinos, como actividades complementarias. Además es importante mencionar que todas las UPAs tienen equinos y caninos.

Cuadro 11. Especies de animales existentes por UPA

EXPLOTACIÓN						
	(UPAs-P)	(UPAs-M)	TOTAL			
G. LECHE	8	11	19			
G. CARNE	3	5	8			
CANINO	8	11	19			
EQUINOS	8	11	19			
PORCINOS	5	4	9			
OVINOS	1	0	1			

Bofill *et al.* (1996), describen que la supervivencia de los agentes etiológicos de la enfermedad en la naturaleza, está dado, por la existencia de reservorios naturales, de los cuales se citan los bovinos, porcinos, caprinos y ovinos, de *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*, respectivamente. El hospedador natural de *B. canis*, es el perro y el de *B. ovis* es el ovino, pero también se ha descubierto *B. abortus*en perros y cerdos. En el cuadro 11 se menciona que todas las UPAs poseen Bovinos de leche como actividad principal, Bovinos de carne, porcinos, equinos, ovinos, caninos, constituyéndose estos en los principales diseminadores en caso de presentarse la enfermedad en la zona.

4.2.6.2. Sistema reproductivo, empleado en las UPAs

El total de las fincas, tanto pequeñas como medianas utilizan la monta natural, como método reproductivo. En el cuadro 12se muestra la procedencia del reproductor, mostrando que 11 (57,89%) seleccionan el reproductor de su hato. Una finca utiliza un reproductor presentado de las fincas vecinas y siete UPAs compran su reproductor en ferias.

Cuadro 12. Procedencia del reproductor

PROCEDENCIA			
REPRODUCTOR	(UPAs-P)	(UPAs-M)	TOTAL
PROPIO	6	5	11
COMPRADO	1	6	7
PRESTADO	0	1	1

AlDiriet al. (1992b), manifiestan que el riesgo de infección aumenta por la incorporación de reproductores, con desconocimiento de la situación epizootiológica, así como densidad de los animales en un rebaño. Los toros sin infección no la contraen por cubrir a vacas infectadas, pero sí la tienen, pueden infectar a éstas, además no existe un período de cuarentena, antes de la incorporación de los nuevos animales al hato.

4.2.6.3. Presencia de los abortos en las UPAs

De las 19 UPAs investigadas cuatro presentan abortos. Uno en la UPA considerada pequeña, y tres en las UPAs consideradas medianas.

Cuadro 13. Presencia de Abortos

PRESENCIA DE			
ABORTOS	(UPAs-P)	(UPAs-M)	TOTAL
SI	1	3	4
NO	8	7	15

Carter (1985), Afirma que la fuente primaria de infección está representada por las hembras preñadas que, al abortar o parir, expulsan grandes cantidades de *Brucella* con el feto, el líquido amniótico y las membranas fetales.

En el cuadro 13 muestra que existen abortos en 4 UPAs. Si bien es cierto que el aborto no es un signo característico de la brucelosis, debido a que este puede ser

producto de otras causas (bacterianas, nutricionales, fisiológicas, intoxicaciones, o por traumatismos), la notificación oportuna de un caso de aborto, ayudaría para la detección oportuna de los focos primarios de infección.

4.2.6.4. Destino de los productos Abortados

ElCuadro 14, presenta el destino de los tejidos abortados, según el tipo de UPA.

Cuadro 14.Destino de los productos Abortados

DESTINO DE TEJIDOS ABORTADOS	(UPAs-P)	(UPAs-M)
ENTIERRA	1	3
CONSUMO DE ANIMALES	0	0
INCINERA	0	0
BASURA	0	0
TOTAL	1	3

Según la encuesta en la zona de estudio los productos abortados los entierran.

El manejo de los productos abortados puede ser un gran problema de diseminación de la enfermedad, ya que estos pueden ser ingeridos por los perros existentes en las UPAs, o pueden ser eliminados directamente a la basura, debido a que la *Brucella spp*.esresistente a factores medio ambientales, y el hecho de que los perros, pájaros, etc. llevan pedazos de placenta o fetos abortados de un lugar a otro, pueden ser vectores de la brucelosis. Bercovich, (2000).

4.2.6.5. Vacunación contra Brucelosis

En la zona de estudio, como indica el cuadro 15 cuatro UPAs consideradas como medianas realizan vacunación contra brucelosis, de las cuales una la realiza el propietario y las tres restantes han sido vacunadas en la campaña realizada por Agrocalidad en el año 2010. La vacuna utilizada para prevenir la brucelosis en la zona de estudio es la Cepa 19.

Cuadro 15. Vacunación contra Brucelosis

VACUNACIÓN CONTRA			
BRUCELOSIS	(UPAs-P)	(UPAs-M)	TOTAL
SI	0	4	4
NO	8	7	15

Miño y Pico (2003), consideran que la vacunación es la única medida para prevenir futuras infecciones, la vacunación con Cepa 19 puede proteger al 95% de los bovinos vacunados, en condiciones de campo.

En la zona de estudio se constató que cuatro UPAs utilizan la vacuna cepa-19 como prevención de la enfermedad y en las UPAs restantes no se realiza vacunación, demostrando que no existe un sistema de vacunación apropiado que abarque toda la zona. Otro de los problemas que pueden estar incidiendo en la inmunidad de los animales es la persona que aplica la vacuna, ya que en la zona de estudio se constató que la vacunación no la realiza un técnico, como se puede observar en el cuadro 16.

Cuadro 16.Persona vacunadora

PERSONA VACUNADORA	(UPAs-P)	(UPAs-M)
BRIGADISTA	0	3
VAQUERO	0	1
TECNICO	0	0
TOTAL	1	4

En el cuadro 16 se muestran las personas que realizan vacunación contra brucelosis, una es vacunada por el vaquero y las tres restante es vacunada por el brigadista designado por Agrocalidad.

Uno de los principales inconvenientes que influye en la inmunidad de los animales es que no se maneja correctamente la cadena de frío de la vacuna, ya que se constató que en ocasiones se interrumpía el fluido eléctrico, presentándose cambios de temperatura que intervienen directamente en la calidad de la vacuna.

4.2.6.6. Consumo de Leche

En el total de las UPAs muestreadas se consume leche propia de la finca, y además se produce queso para autoconsumo. En el cuadro 17 se muestra las formas de consumo de leche.

Cuadro 17. Forma de consumo de leche

CONSUMO DE LECHE	UPAs
PAUSTERIZADA	1
HERVIDA	17
CRUDA	5

Gonzálezet al (1998), afirman que aproximadamente la mitad de las vacas infectadas, después de abortar o parir, eliminan *Brucella* con la leche durante semanas, meses y años. Como se puede observar en el cuadro 17, el 90% de las UPAs consumen leche cruda o no pausterizada. Tal como lo muestran análisis realizados por el MAGAP-SESA (1999), en el que indican que: del total de leche producida, 2062 millones de litros por día en 1998, únicamente el 11,6% se destinó a la pasteurización para el consumo en forma de leche fluida, el 6,2% se destinó a la elaboración de derivados lácteos pasteurizados, el 27,1% fue consumido como leche cruda sin pasteurizar sea como leche fluida o como subproductos, y el 31,7% de la producción es consumida dentro de la misma Unidad de Producción Agrícola (UPA), sea para la alimentación de terneros, consumo como leche fluida o consumo como subproductos, considerándose esto como la principal fuente de contagio de la brucelosis en humanos.

4.2.6.7. Conocimiento de la Enfermedad

Como se muestra en el cuadro 18 de las 19 personas encuestadas una (5,26%) tiene conocimientos sobre la enfermedad y las 18 (94,74%) restantes no conocen la misma.

Cuadro 18. Conocimiento de la Enfermedad

CONOCIMIENTOS DE	
LA ENFERMEDAD	UPAs
SI	1
NO	18
TOTAL	19

Macías (2003), menciona que aproximadamente el 80% de los productores pecuarios no realizan prácticas adecuadas de manejo sanitario en sus explotaciones ganaderas, existiendo una escasez de conocimientos técnicos para llevar adelante la administración exitosa de dichas ganaderías.

V. CONCLUSIONES:

En la zona de estudio existe una baja sero-prevalencia de brucelosis la cual no debe ser considerada como real, ya que no se manejan registros, lo que impide hacer una investigación más específica de esta enfermedad. Y además no se conoce el estado real de la inmunidad atribuida a la vacunación en la zona.

Al ser la brucelosis una enfermedad zoonósica, enla zona de estudio el consumo de leche cruda o no pasteurizada se puede considerar como el principal mecanismo de contagio de la enfermedad en el humano.

La vacunación es la principal y la más económica forma de prevenir y disminuir la incidencia de enfermedades reproductivas, como es la brucelosis.

El MRT no debe ser considerada como la única prueba para determinar la presencia de brucelosis en una zona, es importante el uso de pruebas serológicas con un mayor porcentaje de sensibilidad y especificidad y además que sean de fácil aplicabilidad como lo es la RB y el SAT-EDTA.

VI. RECOMENDACIONES

La concientización sobre la importancia de la vacunación contra brucelosis, debe ser una de las prioridades sobre las cuales se debe trabajar. Es indispensable que los animales sean correctamente inmunizados, estableciendo un calendario de vacunación especificando: la edad de vacunación, dosis administrada, vía de administración, calidad y manejo de la vacuna. Se recomienda vacunar con la cepa 19 como dosis única que confiere inmunidad duradera o la cepa RB 51 con revacunación a los 12 meses.

Los partos, se deberían realizar en lugares aislados y de fácil esterilización, pues así las vacas infectadas (pero aparentemente sanas), no contaminarán el ambiente, además se recomienda no abandonar restos de material abortado (placentas, fetos) o restos de vacuna, en establos o basureros no protegidos.

Es fundamental que los estudios contemplen el aislamiento de *Brucella spp.*, así como su tipificación, para de esta forma obtener un prevalencia real de la enfermedad en una zona.

Mantener informado al personal Técnico (Médicos Veterinarios), Faenadores y productores sobre el riesgo que significa el contagio por los agentes de la brucelosis; a fin de que tomen todas las medidas de prevención durante las actividades que se realicen en los animales bovinos.

VII. RESUMEN

La brucelosis bovina es una enfermedad infecto contagiosa bacteriana que produce perjuicios importantes en la cadena reproductiva y productiva pecuaria, además al ser una enfermedad de características zoonóticas (transmisibles a los humanos), hay una incidencia directa sobre la calidad de vida y salud pública. La investigación se realizó: para (1) determinar la prevalencia de brucelosis bovina en la Parroquia Alluriquin, Recinto Cristal de Lelia, (Provincia de Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador) y (2) para determinar los factores de riesgo de esta zoonosis. Se muestreo 19 UPAs correspondiendo al total de la población, a las cuales se realizó la prueba de anillo en leche (PAL) a cada una, dando como resultadouna UPA positiva (5,26%). Para la confirmación de los resultados obtenidos en PAL, 534 sueros bovinos fueron analizados con las pruebas Rosa de Bengala (RB) y Aglutinación lenta de Wright (SAT) en presencia de EDTA, donde solo un animal (0,19%) presentó anticuerpos (Ac) contra Brucella spp a las 2 pruebas. Para determinar los factores de riesgo se realizaron encuestas a los propietarios de cada UPA, comprobando que las principales formas de contagio en caso de presentarse la enfermedad son: el contacto con los animales y el consumo de subproductos contaminados. El análisis económico demuestra que la vacunación es la principal y la forma más económica de prevenir brucelosis. Además la prevalencia no puede ser considerada como real ya que no se conoce el estatus de vacunación de la zona de estudio.

VIII. SUMARIO

Bovine brucellosis is an infectious contagious disease that causes reproductive and livestock production damage, in addition to being a zoonotic disease characteristics (transmissible to humans), there is a direct impact on the quality of life and public health. The research was conducted: (1) to determine the prevalence of bovine brucellosis in "Recinto Cristal de Lelia – Alluriquin" (Province of Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador) and (2) to determine risk factors for this zoonosis. Five hundred thirty four blood samples were collected from 19 farms. Milk ring test (PAL) was done per farm showing positive results at 5.26% (1 UPA). To confirm the PAL results, the bovine sera were analyzed using the Rose Bengal test (RB) and Slow Agglutination of Wright (SAT) in the presence of EDTA, where only one animal (0.19%) presents antibodies (Ac) against *Brucellas*pp To determine the risk factors surveyed owners of each UPA, proving that the main way of transmission are: contact with animals and consumption of contaminated products. Economic analysis shows that vaccination is the main and most economical way to prevent brucellosis. Moreover, the prevalence cannot be considered as real as they do not know the vaccination status of the study area.

IX. BIBLIOGRAFIA

- Acha P.N. &Pzyfres B. 1986. Brucelosis. In: *Zoonosis y Enfermedades Transmisibles*Comunes Al Hombre y Los Animales. OPS & OMS editors. Nueva Editorial

 Interamericana, Washington, pp. 14-24.
- Aldiri, G; Llorentes F; Silveira E, et al. 1992b. Comportamiento de la evolución de la Brucelosis en cooperativas de diferentes tamaños vacunadas y sin vacunar. RevCubCiencVet. 23(2- 3): 117- 122.
- Alvarez,E.2001.Situación de la Brucelosis en América:panorama general. En:

 Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz,E., Hernández,L.,Valero,G.&

 Arellano,B.,México,pp.9-15.
- Alvarado C. 1959. IndiceBrucelósico En Bovinos Del Cantón Zaruma. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cental del Ecuador.
- Ariza J. 2002. Brucelosis: aspectos actuales de principal interés. Control Calidad SEIMC. http://www.seimc.org/control/revi_Sero/brumcli. htm1-4.
- Bautista, M., & Ochoa, B., 2001. Técnicas de Inmunoensayo ligadas a enzimas. En:

 Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G.

&Diagnóticode Brucelosis animal. Díaz, E.,Hernández, L., Valero, G & Arellano, B., México, pp. 92-94.

- Bauza E. Tratamiento antimicrobiano de la brucelosis. Información terapéutica de la Seguridad Social 1999. Guayaquil Ecuador. Pp 155-160.
- Bercovich Z. 2000. The use of skin delayed-type hypersensitivity as an adjunct test to diagnose brucellosis in cattle: a review. VeterinaryQuarterly 22, 123-130.
- Blasco, J., 2001. Profilaxis Medica de la Brucelosis en los rumiantes: las vacunas clásicas y las nuevas vacunas. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México, pp.158-176.
- Blood D., Henderson J. &Radostits O. 1987. Enfermedades causadas por diversas especies de Brucella. In: Medicina Veterinaria. Interamericana, México, pp. 522-540.
- Bowden, R., 1996. Brucelosis. En: Temas de Microbiología Veterinaria. Stanchi, N., Merino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Pennimped, E., La Plata-Argentina, pp. 341-367.

- Bofill, P; Rivas A; Ramírez W, et al. 1996. Brucelosis. En: Manual de Enfermedades Infecciosas. Primera reimpresión. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional, México. 2:60-84.
- Carter G.R. 1985. Brucelosis. In: Bacteriología y Micología Veterinaria. El Manual Moderno, México, pp. 230- 238.
- Cobos, L., Peña, G., Romero, C., Velásquez, F., Velásquez, M., Vicencio, M., Villa, J.,
 Luna, J., Mateos, A..& Betancourt, X., 2001. Fijación de Complemento. En:
 Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano,
 B., México, pp. 56-79
- Díaz, E., Leal, M. & Cantú, A., 2001. Brucelosis Bovina. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México, pp. 136-144.
- Doutre M., Fensterban ,R. &Sagna F. 1977. Etude de la brucellosebovinedans un village de Basse-Casamance (Sénégal). Rev. Élev. Méd.vét. Pays trop. 30, 345-351.
- Drutz DJ, Graybill JR. 2002. Enfermedades Infecciosas. En: Funderberg HH, Stites DP, Cladwell JL, Wells VJ. Manual de Inmunología Clínica, 2da Edición, México; Editorial El Manual Moderno, p-695.

- EL AGRO. 2000. Prevalece doble propósito, realidad lechera y cárnica en el Ecuador, revista Nº 39: 14.
- Erazo M. 1999. Enfermedades de los bovinos. Tesis Med, Vet. Machala, Universidad Técnica de Machala.,-p.60.
- FAO & OMS 1986. Comité Mixte FAO/OMS d'Experts De La Brucellose. Sixieme Rapport. OrganisationMondial de la Santé, Genève (Suisse).
- Garin B., Trap D. &Gaumont R. 1985. Assessment of the EDTA seroagglutination test for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet. Rec. 117, 444-445.
- García-Carrillo 1987. Ecuador. In: La Brucelosis De Los Animales En América En Su Relación Con La Infección Humana. OIE. París Francia, pp 124-133.
- Gil A. &Samartino L. 2000. Zoonosis en los sistemas de producción animal en las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Food and Agriculture Organization.Livestock Information and Policy Branch, AGAL. http://www.fao.org/ag/AGA/LSPA/papers/policypapers02.pdf 1-65.
- González Tomé, J.S.;Villa, L.J.; del Palacio, E.; Gregoret, R.1998. El test de Angus y Barton (BPA) como prueba tamiz en el diagnóstico de la brucelosis bovina. Rev. de Med.Vet.1: 34-36.

- Godfroid y Boelaert., 1995. Prescriptionspour le diagnosticserologique de la brucellose. Bélgica, pp. 1-6.
- Halling S. & Boyle S. 2002.Foreword (Editorial). Vet. Microbiol. 90, 1-4.
 Internet 2002b.Lechería-tambo-sanidad.http://www.ecampo/sections/neuws/print.
 php/uuid. 124173A6-ECA5- 11D4-9B0000010226AA51/
- Leal, M. &Martinez, O., 2001. Prueba de Rivanol. En: Diagnóstico de Brucelosis animal.Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México, pp. 82-85.
- López de Ullibarri I, Pita S: Medidas de concordancia:el coeficiente kappa. Cad aten primaria 1999; 6: 169-71. Disponible en www.fisterra.com [consultado el 01/10/07].
- López-Merino A. 2002. Brucella. http://biblioweb. dgsca. unam. mex/libros/microbios/Cap7.
- Lucero, N.E., Ayala, S.M., Escobar, G.I. & Jacob, N.R. 2008. Brucella isolated in humans and animals in Latin America. Epidemiological Infection 136: 496-503.
- Macías, G. 2003. Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Ántrax en los Bovinos. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo-Manabí, pp.43-80.

- MAGAP-SESA, 1999. Prevención y control de la brucelosis bovina en Ecuador.

 Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Ecuatoriano de Sanidad

 Agropecuaria.
- Mancera, A., 2001. Prueba de Antígeno Brucelar Amortiguado o de Tarjeta. En:
 Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano,
 B., México, pp. 80-81.
- Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para animales terrestres, Capítulo 2.4.3. (2008). Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf
- Mandell, G., Bennett, J. & Dolin, R., 1997. Especies de Brucella. En: Enfermedades Infecciosas principios y práctica. Cuarta edición, Editorial Medica Panamericana, Buenos Aires, pp. 2300-2305
- Miranda, A., Báez, E. &Tarabla, H., 2001. Valor predictivo positivo de una modificación a la técnica del BPA para el diagnóstico de brucelosis bovina y concordancia con el BPA tradicional
- Mellado, A. 1996. Género Brucella, Legionellay Pasteurella. In: Microbiología Médica. García-Rodríguez J.& Picazo J., editors. España, pp. 267-278.

Memish, Z.A. & Balkhy, H.H. 2004. Brucellosis and International Travel. Journal of Travel Medicine 11: 49-55.

Merchant I, y Packer R., 1980 Bacteriología y Virología Veterinarias

- Miño, B. & Pico, V., 2003. Estudio de la Presencia de Brucelosis Bovina, enexplotaciones ganaderas del Cantón Mejia, Tesis Doctoral, Facultad deMedicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador, pp. 63-66; 88-96
- Morriyón, I., y López-Goñi, I., 2001. Estructura, Genética y Fisiología delgénero Brucella. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México, pp. 17-27.
- Nielsen, K; Gall, D; Kelly, W; Henning, D; Garcia, M. (1992).Enzyme immunoassay.Application to diagnosis of Bovine Brucellosis.Ed. AgricultureCanada, Canadá, pp. 203.
- OIE 2000a. Maladies de la liste A et de la liste B de l'OIE. In: Code Zoosanitaire International, Mammifères, OiseauxEtAbeilles. Office International des Epizooties., editors. Paris, France pp. 9-10.

OIE 2002a.Brucelosis bovina. Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas. http://www.oie.iny/esp/normes/mmanual/E_00021.htm1-7.

OIE 2002b.Bovine brucellosis. Manual og standards for dignostic tests and vaccines, 4th edition, 2000. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00048. htm 1-23.

OIE. 2004. Chapter 2.3.1.Bovine Brucellosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_ooo52.htm

Pachame, A., 2001. Revista del Colegio de Veterinarios, de Argentina. 21:pp. 50-56.

Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L. & Tsianos, E.V. 2006. The new global map of human brucellosis. Lancet Infectious Diseases 6: 91-99.

Picazo, J., & Fuertes, A., 2002. Diagnóstico serológico de la Brucelosis. En: Protocolos de Diagnóstico Serológico Clínico, Num.24.

Ruiz-Castañeda, M. 1954. Brucelosis. 2da edn. La prensa médica mexicana, México.

Saravi, M., Wright, P., Gregoret, R. & Gall, D., 1995.Comparative performance of the enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) and conventional assays in the diagnosis of bovine Brucellosis in Argentina, Veterinary Immunology and Inmunopathology 47:93-99.

- Suárez, F., 2001. Introducción. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. & Arellano, B., México, pp. 1-7.
- Roux J. 1979. Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bulletin de l'OrganisationMondial de la Santé 57, 179-194.
- Terradas C., Luque I., Maldonado A., Arenas A., Huerta B., Borge C. & Astorga R. Zoonosis transmitidas por animales de experimentación. Revista del Colegio de Veternarios de la provincia de Bueno Aires. 19, 45-53. 2001.
- Tryland M, Kleivane L, Alfredsson A, Kjeld M, Arnason A, Stuen S, Godfroid J. 1999.

 Evidence of Brucella infection in marine mammals in North Atlantic Ocean. The Vet.

 Rec. Vol 144: 588-592.
- Wade B., Arteaga C., Morillon M., Kraemer P., Maslin J., Molinier S. &Perret J.-L.1998. Brucellosed'importation: unneuveaurisque pour le vayageur?MédecineTropicale 58, 205-206.

X. ANEXOS

Anexo 1. Encuesta Epidemiologica de Brucelosis Bovina



INFORMACIÓN GENERAL

Provincia: Santo Domingo de los Tsachilas Cantón: Santo Domingo de los Colorados

Parroquia: Alluriquin

Recinto: El Cristal de Lelia

FICHA DE LA EXPLOTACION (UPA)

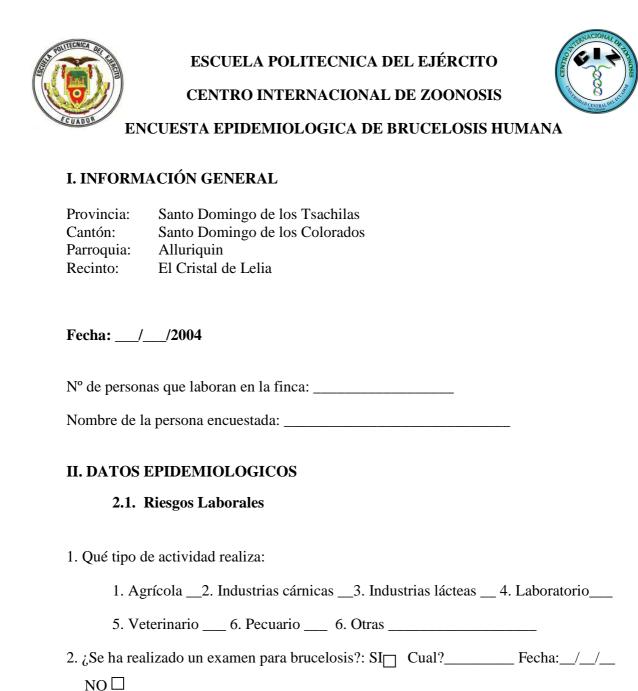
1. IDENTIFICACION Y LOCALIZACION DE LA EXPLOTACION

No. registro:/ Fecha: _	/20	Encuestador:
Nombre de la explotación UPA:		
Nombre del propietario:		
Nombre de la persona encuestada:		
Cargo: Año	os de trabajo	
2. DATOS GENERALES DE LA I	EXPLOTACION	
Tipo de explotación: Intensiva	Extensiva [☐ Mixta ☐

Tipo de producción: Leche
Inventario de otros animales: Ovejas// Cabras// Cerdos//
Perros/ Gatos/ Caballos/ Camélidos
Otros/
3. ASPECTOS SANITARIOS
SISTEMA DE BIOSEGURIDAD
Procedencia de animales de reemplazo:
Vecino Localidad Feria Otros
AGUA DE BEBIDA Y ALIMENTACION
De dónde procede el agua de bebida para los animales:
Río Acequia Pozo Cisterna Otros Otros
SISTEMA DE REPRODUCCION
Cuál es el sistema reproductivo empleado: Monta natural Inseminación artificial Mixta Transferencia de embriones
De dónde procede el toro y/o semen empleado
Existe un lugar específico para las pariciones: Si (donde) No
PATOLOGIA REPRODUCTIVA
Se producen abortos: Si No No
Se producen abortos entre los 6 y 8 meses de gestación: Si No No
Cuál es el destino de los tejidos abortados: Entierra Incinera Incinera
Bota a la basura Consumode animales (cuales)
Cómo se ha tratado la enfermedad:
Cuál es el destino de los animales enfermos: Ventacrificio en la UPA Cal

Existen nacimientos de terneros débiles: Si No
Existen metritis en los animales: Si % de animales afectados:
CALENDARIO SANITARIO
Existe un calendario de vacunación: Si No No
Realiza la vacunación de los animales contra la brucelosis: Si No No
Quién realiza la vacunación de los animales: Veterinario ☐ Vaquero ☐ otros:
Cual fue la vacuna (cepa) utilizada:
CONOCIMIENTOS SOBRE LA ENFERMEDAD
Conoce como se transmite la brucelosis: Si (como)No

ANEXO 2. Encuesta Epidemiologica de Brucelosis Humana.



Alergias ____

Dolores de cabeza ____

3. ¿Presenta alguno de los siguientes síntomas?:

Fiebre ondulante ____

Debilidad ____

Sudoración nocturna	Falta de sueño)
Dolores articulares	Falta de	le apetito
Dolores musculares	Problemas del	l corazón
Hace que tiempo se iniciaron lo	s síntomas:	
4. Ha tenido contacto con:		
Bovinos: Ovinos:	Porcinos: Ca	aprinos: Equinos:
5. ¿Con que especie animal trab	aja más?:	
6. ¿Ha tenido contacto con: Plac Cuál	entas, fetos, aborto	os o secreciones?: SI□ NO□
El contacto ha sido: Esporá	.dico:	Frecuente:
7. ¿Usa algún tipo de protección	en el trabajo? SI□] NO □
Mencione que protección u	tiliza:	
Guantes ☐ Mascarilla□	Mandil \square	Botas□ Gafas□ Overol□
2.2. Riesgos por consun	no de alimentos	
8. Consume algunos de los sigui	entes productos lác	cteos:
Leche de vaca:		Queso de vaca:
Pasteurizada:	-	Industrial:
Hervida:		Artesanal:
Cruda:		Usted mismo lo produce:
Yogurt:		Mantequilla:
Pasteurizado:	-	Pasteurizado:
Casero o no paste	eurizado:	Casero o no pasteurizado:
9. ¿Elabora productos a partir de	e la leche producida	a? SI (cuál): NO 🗆

10. ¿Ha consumido alguna vez un feto o placenta?: SI Cuál?	NO□
11. ¿Ha consumido alguna vez sangre de bovino? SI: Cruda ☐ Cocida ☐	NO□
III. CONOCIMIENTOS SOBRE LA ENFERMEDAD	
16. ¿Sabe que es la Brucelosis? SI	_ NO 🗆
17. ¿Conoce como se transmite la brucelosis? SI (¿cómo?)	_ NO 🗆
18. ¿Sabe cuáles son los síntomas? SI cuales?	_ NO 🗆
19. ¿Algún miembro de su familia tuvo brucelosis? SI (¿quién?)	_ NO 🗆
20. ¿Ha recibido tratamiento contra la brucelosis? SI (¿cuál?)	_NO □
21. ¿Existe una enfermedad común entre los trabajadores de la finca? SI (¿cuál?) NO □	

Nombre del Encuestador:

ANEXO 3. Resultados a la prueba Rosa de Bengala.

		ENTRO IN UNIVERSI	DAD CENT			
		DIAG	NÓSTICO D	E BRUCEL	.osis	
		Prueb	a Rosa de	Bengala	(RB)	
НО	JA N° 4	Esp	ecie: Bow	noj	Fecha:	12 loct. 1 201
Fe	cha muestreo	Ago. 120	íi P	rocedencia:	Tasi A	Duriquin (TA)-
						en/nc
	PLACA 1					N ()
	SC(2) 1	5	9	13	17	21
	2	6	10	14	18	22
	3	4	11	15	19	23
	4	8	. 12	16	20	24
				T		
	PLACA 2		P()	S (()	N ()
	25	- 29	33	_ 37	41	45
	26	_ 30	34	- 37	42	_ 46
			35	36	43	44
	_ 27	31	_			

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

	4	1) Pr	ocedencia: T	esis All	muguin
e Lote 21410	9 200 F	echa exp: 2	7/11/12	Resp (HIR
PLACA 1		P()	s()		N ()
49	53	23	61	65	6
SO	S4 —	23	62	66	1
51	55	29	63	67	
52	56	60	- 64	- 68	7
PLACA 2		P()	S()		N()
13	13	- 81	32	89	
74	- 43	32	86	৭০	
75	19	33	33	વા	<u> </u>
16	80	84	33	92	

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

		Tuese	1 NOSE C	e bellyala	(IXD)	
ALOH	V° 3	Esp	ecie: Boui	ivos	Fecha:	12/0d.1
		V			Tesis All	
	LACA 1		P()		()	N ()
	_ 97	101	_ 105	103	_ 113	
	- 98	102	_ 106	_ 110	1.14	_ 118
	99	103	_ 107	144	415	
	- 100	104	- 108	477 442	_ 116	120
PI	LACA 2		P()	S	()	N ()
	121	125	129		_ 13+	
	122	.126		134	_138	
	123		- 131	435	139	143
	124	128	132	136	140	144

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

но	JA N° 4	Es	pecie: Bou	ino	Fecha:	12/04./2011
Fed	cha muestreo	Sep. 120	11 F	Procedencia:	Tesis Al	lmigaur
N° d	e Lote 2141	09	Fecha exp:	27/11/12	Resp	en)nc
	PLACA 1		P()	S	()	N ()
	145	149	153	157	_ 161	165
	146	150	154	12.8	162	_ 166
	147	151	_153	159	163	167
	-148	152	-156	160	_ 164	163
	PLACA 2		P()	s	()	N ()
	169	173	177	[8]	[85]	189
	120	174	178	182	186	190
	131	175	179	_183	[85]	191
	_172	176	_180	_ 184	188	192
	Allen (olive)					

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

JA N° 5					
ha muestreo	Ago. 120)) Pro	ocedencia:	Teris All	uri quin
e Lote 214%	09	Fecha exp: 2	7/11/12	Resp @	n ne
PLACA 1		P()	s ()	N ()
_193	197	705	205	- 2091	_ 21
199	198	202	_ 206	- 210	_ 214
195	199	703	- Fai	211	-213
196	200	209	503	_212_	211
PLACA 2		P()	s (1	N()
217	155	- 555	229	~ z33	23
518	222	226	230	- 234	- 238
219	- 223	- 227	231	235	- 53c
223	224	228	232	236	24

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

		P	rocedencia:	Tesis All	uni gauns
Lote 2 1 4 1	,oq	Fecha exp:	27/11/12	Resp	en inc
PLACA 1		P()	S()	N ()
241	- 245	249	253	475	761
_ 2412	246	_ 250	254	528	_ 26:
- 243	201	251	522	259	_ 26)
- 2014	- 5M8	- 525	256	260	- 561
PLACA 2		P()	6.1		N/N
PLACA 2		Γ()	S (N ()
205	269 —	213	277	- 281	- ZS
266	270	274	278	_ 282	_ Z8
- 267	271	275	279	283	28
268	_ 272	276	280	284	28

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

HOJA N° 7	Espec	ie: Bouine)	Fecha:	13 / Oct. 120
Fecha muestreo	Sep. 2011	Pro	cedencia: T	esis Allu	inguin
N° de Lote 2141	09 Fe	cha exp. 2	7/11/12	Resp &	in/nc
PLACA 1		P()	S ()	N ()
289	z93 	541	301	305	309
290	294	298	302	306	310
291	295	209	303	304	311
292	296	300	304	308	312
PLACA 2		P()	s ()	N()
313	313	321	325	329	333
314	319	322	326	330	334
315	319	323	323	331	335
	320	324	328		
316	- 5.00	- 524	-	332	336

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

JAN° 8	Esp	ecie: Bolina	5	Fecha:	13/10/20
cha muestreo	Sep-2011	Pr	ocedencia:	Tesis Allo	ngoin
de Lote 214A	09 1	Fecha exp: 🤌	7/11/12	Resp	en Inc
PLACA 1		P()	\$ ()	N()
337	341	345	399	353	351
338	342	346	350	354	359
339	343	34.7	351	355	359
340	344	348	352	356	360
PLACA 2		P()	S(N ()
361	365				331
-361	- 203	369	_ 373	377	
362	_ 366	340	_ 374	378	382
_ 363	367	371	375	379	383
364	368	372	376	- 320	- 321

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

HOJA N° 9	Es	pecie: Boin	w.	Fecha:	13/00/20
Fecha muestreo	Sep-2011	al mise P	rocedencia:	Tessis Al	loñqoin
N° de Lote 24	4109	Fecha exp:	27/11/12	Resp	em/nc
PLACA 1		P()	S()	N()
385	389	393	39.1	401	405
386	390	394	399	402	406
384	391	395	399	403	407
388	_ 392	396	400	_ 404	403
PLACA 2		P()	S(1	N ()
. 210.12		,		,	
409	413	417	421	425	_ 429
410	_414	418	422	426	430
411	415	419	423	427	_ 431
412	_416	- 420	_ 424	428	_ 432

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

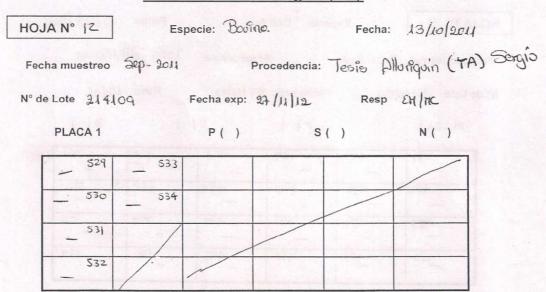
ној	A Nº 10	Esp	ecie: Boogn	0	Fecha:	13 1 10/20,
Feci	ha muestreo	Sep-2011	Pı	rocedencia:	Tesis Allon	opin
N° de	e Lote 21410	9	Fecha exp:	१२ मि । १२	Resp	en/nc
	PLACA 1		P()	S ()	N ()
	433	437	441	_445	449	_ 453
	434	438	442	446	450	454
	435	439	443	_447	451	455
	436	440	444	_ 448	452	456
	PLACA 2		P()	s (N ()
		6/1			473	444
	457	- 461	465	_ 469	- 4175	7774
	453	462	466	440	474	478
	459	463	467	471	475	479
	460	464	_468	772	476	480

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

HOJA Nº 1	Es _l	pecie: Boui	no.	Fecha:	13/0ct/2a
Fecha muestreo	Sep-2011	in and part	Procedencia:	Tesis A	llunguin
N° de Lote \$10	Hog	Fecha exp:	27 4 12	Resp	entre
PLACA 1		P()	S	()	N()
481	485	489	493	497	501
482	486	190	494	498	502
483	487	491	495	499	_ SD3
484	488	- 49z -	496	_ 500	504
PLACA 2		P()	S	()	N()
505	209	513	21.7		2525
506	210	514	518	522	526
507	511	_ SIS	219	523	521
208	512	516	520	524	528

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba Rosa de Bengala (RB)



ANEXO 4. Resultados a la prueba SAT - EDTA.

			CE		RO IN VERS							IS		
					DIAG	NÓST	ICO I	DE BF	RUCEI	OSIS				
						Prue	ba S	AT-E	DTA					
	Pla	aca N°	A		Es	pecie:	Boo	inos		F	echa:	121	Oct / 2011	
F	ech	a mues	treo	Agod	t - 20J	1	F	roced	encia:	Tesi	5 SE	\$610	Alloingo!	n
	1	(1/12.5)	(1/25)	ω (1/50)	(1/12.5)	6 (1/25)	9 (1/50)	4 (1/12.5)	<u>\infty</u> (1/25)	(1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	(09/1)	
Coldigo (TA)) A	1	2	3	9	3	9	17		-	25		12	
	В	2			10			18			26			
	С	3		-	11			19	-		27	2.0		
	D	4			12	7.63		20	1000		28			
	E	5			13	-		7			29	-		
	F	- 6	-	-	14	-	-	- 22	-	-	30	-		
	G	- I	-	-	<u>-</u>	-	-	_ Z3	_	-	31	-		
	Н	8	-1	-	16	-	-	-	-	-	32	-	-	
	-	-1	-	-		-6	-	_	-67	-	_		7	



DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Pla	aca N°	2		Es	pecie:	Bosin	ρ ί ο		F	Fecha:	12/0	4/2014
Fech	a mues	streo	Agost	- 2011			Proced	encia:	Tests	s Allo	ritquin	- Sergi
	1/12.5)			(6	6 (1/25)	o (1/50)	4 (1/12.5)		(1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	
Α			an i	41			49	19anus		57		
	_	-	-	-	-	-	_	-	-	_	-	_
В	34	· Jage		42			30			28		
	-	-	_	-		-		-	-	-	-	
C	35			43			SI			59		
		-		~		-	_			Apple Sept. 10		_
D	36			44			52			60		
	33			10			-			(1)		
E	37			45			53			61		
F	38			46			54	_		62		
Г	-		_	16		_	34			50	~	
G	39			47			55			63		
J		~	- 8	_	_	-	77		Xellen	-		_
Н	40			48			56			64		
		-	_		-	-	_	-			-	

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Especie: Bournes Fecha: 12/0c/2011 Placa Nº 3 Agost-2011 Procedencia: Tesis Allungin - Sergio Fecha muestreo 10 12 A 65 73 31 B 66 74 90 C 67 75 33 68 76 34 92 69 E 70 F 19 36 G 71 79 H 72 80 96

25%

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Place N° 4 Especie: Bournes Fecha: 12/0ct/2011

Fecha muestreo Agost - 2011 Procedencia: Tesis Allonguin - Sergio

	1 (1/12.5)	(1/25)	ω (1/50)	4 (1/12.5)	5 (1/25)	6 (1/50)	4 (1/12.5)	<u>\infty</u> (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	(09/1)
A	44		To the	105			113			(2)		
				-		-	_	- 01	-		-	_
В	98			106			114			122		
	25	-	_		4.00	-	_	-	~	-	-	-
C	99			107			115	-		123		112.63
			_	-		NT.	-	_	-		-	~
D	100			103			116	and .		124		
	~	-	_	_		-	-	-	_		-	-
E	101			109			+11			125		
	_			_			-	^	-		-	_
F	102			110			118	l vent		126		
	_	-		-		_		-1	-	-	-	0.7
G	103			111			119			£51		
	-	-		-	^	-	25	-		_	-	1
Н	104	-		112			120			128		
			1	100	160	100	-	-	-	_	-	-



DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Especie: Bookes Fecha: 12 | Od. | 2014 Fecha muestreo Agost-2011 Procedencia: Tesis Alluriquin - Sergic (1/12.5) (1/25) (1/50) 12 A 129 133 146 154 50 C 131 147 143 156 D 132 140 E 133 F 134 142 150 G 135 H 136 144 152



DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

PI	aca N°	6		Esp	ecie:	Bod	ines.		F	echa:	12/00	1/2014
Fech	a mues	streo	Agest	0 - 2011			Proced	encia:	Testo	Alluna	goin -S	pergio
	1 (1/12.5)	(1/25)	(1/50)	4 (1/12.5)	6 (1/25)	9 (1/50)	2 (1/12.5)	<u>∞</u> (1/25)	6 (1/50)	00 (1/12.5)	11 (1/25)	(05/1) 22
A	161		-	169	- 1		tfi		No temperate de	185	Anne de la companya d	
В	162	_		170		_	178			186		
С	163			171			179			187		
D	164			142			130			188		
E	165			173			131			189		
F	166			134			182		(III AND	190		
G	167			175			183			191		
Н	168	-		176			184			192		

CENTRO INTERNACIONAL DE ZOONOSIS

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS



Prueba SAT-EDTA

Placa N° 7

Especie: Bovinos Fecha: 12/04/2011

Fecha muestreo Agosto - 2011 Procedencia: Tesis Alluriquin - Sergio

	(1/12.5)	(1/25)	(1/50)	(1/12.5)	(1/25)	(1/50)	(1/12.5)	(1/25)	(1/50)	(1/12.5)	(1/25)	(1/50)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	193			201			209			217		
	_	_	-	- -	-	_	-	_	_	-	-	_
В	194			202			210			218		
	-	-	-	_	-	_	_	-	-	-	-	_
C	195			203			211	4		219		
1	-	-	-	_	-	-	_	-	-	-	_	_
D	196			204			212			220		
	_	-	_	_	-	-	-		_	_	-	_
E	197			205			213			221		
	-	*******	-	-		-	_	-	_	_	-	_
F	198			206			214			222		
		-	_		-	_		-	_	_		-
G	199			207			215			223		
	-	_	-			_		_		_	-	
H	200			208			216			224		
	-	_	-		-	-		-	_	_	_	_

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS



Prueba SAT-EDTA

Placa N° 8

Especie: Bosinos

Fecha: 12/Oct. /2011

Fecha muestreo Sept- 2011

Procedencia: Tesis Allun quin - Sergio

The state of	1 (1/12.5)	8 (1/25)	% (1/50)	4 (1/12.5)	2 (1/25)	9 (1/50)	4 (1/12.5)	8 (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	11 (1/25)	(09/1) 12
Α	225			233			241		- 100	249		
В	226		1 1	234	- 1	- 10 m	242		1	250		
С	223	-	,	235	_		243			251	-	-
D	228		77.9	236			244			252	~	
E	229			234			245	_		253	2012	
F	230			238	- 150		246			254		
G	231			2.39	_		247	-		255	-	9
Н	232			240			248			×6	-	_

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

		Prueba	SAI-E	DIA				
Placa N° 9	Es	pecie: B	confor		F	echa:	13-00	t-2011
Fecha muestreo	Sept - 2011		Proced	lencia:	Tesis	Allone	quin -	Sergic
	(1/50) 3 (1/12.5)	(25)	9 (1/50) 2 (1/12.5)	(1/25)	(20)	(1/12.5)	(1/25)	(20)
(1/12.5	3 (1/12)	6 (1/25)	6 7	8	6 (1/50)	10	11	(09/1) 12
A 257	265	0	273	U		281		IA.
		- -	-		1=.	-		-
B 258	266		274			282	N Slain	
		- -	1025	-		283	LT I	-
C 259	267		275			283	_	-
D 260	268		276			284	30.4	
			50	25	-	-	_	-
E 261	269		277			285		H
				-	-	-	-	-
F 262	270		278			286		
C 243	271		1270			202		
G 263	- -	_ -	279	-		287		
H 264	272		280			288		121
	- -	- -		-	-	_	-	_

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Placa N°- 10 Especie: Boolnes Fecha: 13-0c4-2011

Fecha muestreo Sept. 2011 Procedencia: Tesas Allongoin - Sergio

	1/12.5)	2 (1/25)	6 (1/50)	4 (1/12.5)	5 (1/25)	9 (1/50)	2 (1/12.5)	8 (1/25)	6 (1/50)	01 (1/12.5)	11 (1/25)	(05/1) 12
A	289	Se design		297		To be to	3C5		1	313		
	-	-	_	25	-	-	,	-	_	_	-	_
В	290			298	THE REAL		306			314	THE OWNER	
	-	-	-	_		-	-	-	~	-		-
C	291			299			307			315		
	-	-	-		-	-	-	-	1	-	-	
D	292			300			308			316		
	-	-	-		-	-	-	_	-	-	_	
E	293			301			309			317	Service of	
	-	-	-	-	_	-	-	-		-	-	
F	294		Tales III	302			310			318	Harry Bridge	
	-	-	_	-	-	-	-	^	1	750	-	- 1
G	295			303			311			319		
	-	-	-	-	_	-		-	-	_	-	-
Н	296			304	TANK S		312	77.5		320		
	-	-	-	-	_	_	-	-		-	-	- 1

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Especie: Bovinos Fecha: 13-0d-2011

Fecha muestreo Sept. 2011 Procedencia: Tesão Allonquin - Sergio

	1/12.5)	(1/25)	(1/50)	4 (1/12.5)	. (1/25)	o (1/50)	4 (1/12.5)	∞ (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	11 (1/25)	(09/1) 12
Α	321			329	and.		337			345		
	-	-	-		-	-)	_	_	-	-
В	322			330			338		1	346		
	-	- 1		40-4	-	-	_		-	-		_
C	323			331			339			347		197
		-	-			-		-	-	~	-	
D	324			332			340			348		34
	-	-	7		-			arei mane	-			377
E	325			333			341			349		
	-	7	-	-				Distance.				
F	326	T		334			342			350		
_	0.02			226	The same		2/12					
G	327			335			343			351		
-	220			726			21111			2 5 0		
Н	328			336			344			352		
				-	-					-		

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA



Placa N° 12 Especie: Bovinas Fecha: 13-Oct. 2011

Placa N° 12

Fecha muestreo Sept. -2011 Procedencia: Tesis Allonguin - 2011

Sergio

	(1/25)	ω (1/50)	4 (1/12.5)	2 (1/25)	o (1/50)	(1/12.5)	8 (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	(09/1) 12
A 353	2	3	361	3	0	369	0	9	347	11	12
A 333			261			369			27+		
В 354			362			370			378		
	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
C 355			363			371	Pres.		379		
	-			_		-	-	-		-	-
D 356			364			372		-	380	-	
	-	-	_	-	-	_	-	-	-	-	-
E 357		3010	365			373	The self		381		
	-	-	-	-	-	7		-	-	-	_
F 358			366			374	1777		382	TER	4
	= .	-	-	_	-	_	-	-	~	-	_
G 359			367			375			383		
		-		-	_	-	-	-	-		
H 36C	1.5		368			376			384		
	1-1	_	-	-	-	~	-	-	-	-	

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Placa N° J3

Especie: Booines Fecha: 13/00/2011

echa muestreo Sept. 2011 Procedencia: Tesis - Allonguin - Sergio

	1/12.5)	(1/25)	ω (1/50)	4 (1/12.5)	6 (1/25)	9 (1/50)	4 (1/12.5)	∞ (1/25)	(1/50)	0 (1/12.5)	11 (1/25)	(09/1) 12
A	385			393			401			409		
	-	-	_		-	_		_	-	1-	-	1-
В	386			394			402			410		
1	4-11	-	- a	-		-	25	_	-		1	-
C	387			395			403			411		1-7
	-		-	L	-	-		-	-	-	-	
D	388			396			404			412		
		-	-	-	-	_		-			-	1-
E	389			397			405			413		
-	-					-	^	-		P	1	-
F	390		Kent Tue	398			406			414		
40			_		-	_	-	_	-		1	-
G	39 L		Parangua Marangua	399			407			415	1.44	Tall I
		-		-				-			-	
Н	392			400			408			416		H
			-			_	Line and the second	-	1-	1, -1	_	

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Especie: Booince Fecha: 13-0d-2011 Placa N° 14 Fecha muestreo Sept-2011 Procedencia: Tesis Allunquin-Sergio (1/25) 12 B 413 C 419 444 D 420 428 436 E 421 429 437 F 422 438 430 446 447 G 423 431 439 432 440 448 H 424

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

PI	aca N°	15		Esp	ecie:	Boo	imos		F	echa:	15 8	15)
ech	a mues	treo	Sept	- 2011			Procede	ncia:	Tesis	pllo,	niquin) S.
	1 (1/12.5)	2 (1/25)	(1/50)	(1/12.5)	(1/25)	9 (1/50)	4 (1/12.5)	8 (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	(1/20)
A	449			457			465	Section 1		473		
В	450			458			466			474		
С	451			459			467			475		
D	452			460			468			476		
E	453			461			469	181		477		
F	454			462	- I		470			478		
G	455			463			471			479		
Н	436			464			472			480		

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Prueba SAT-EDTA

Placa N° 16 Especie: Bovinos Fecha: Fecha muestreo Sept. 2011 Procedencia: Tesis AlloRgoin - Sergio A 481 489 497 505 490 B 482 306 C 483 499 491 507 D 484 492 500 508 E 485 493 SOL 509 F 486 494 502 510 G 488 503 511 504 512

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Placa N° /7				Especie: Bounces					Fecha:		(17)		
Fecha muestreo				Procedencia				encia:	Tesis Allorquin - Segio				engio
	1 (1/12.5)	(1/25)	6 (1/50)	4 (1/12.5)	6 (1/25)	9 (1/50)	2 (1/12.5)	∞ (1/25)	6 (1/50)	0 (1/12.5)	(1/25)	(05/1) 12	
A			-	521			529			.01			
	-	-				_	3-5	-	-				
В	514			522			530	100					
		_	-		-	18 -	_	-	-				
C	515			523		M-1	53L						
		-	-		-		-	_					
D	516			524			532						
		-	-	-	-	-	-	-	-				
E	517			525			533			1			
		-	-	~	_	-	-	-	-				
F	518			526			534						
	-		_			_	_	-					
G	519			527					100		-		
	-	_		5.00								NG V	
Н	520			528									
				25	25	-						A. 10 .=	

ANEXO 5. Reporte Fotográfico



Foto 1. Toma de muestra para MRT.en los tubos de ensayo.

Foto 2. Colocación de 1ml de leche



Foto 3. Colocación del antígeno



Foto 4. Homogenización de la muestra



Foto 5. Observación del anillo



Foto 6. Toma muestra de sangre en Foto 7. Toma muestra de sangre a campo abierto manga

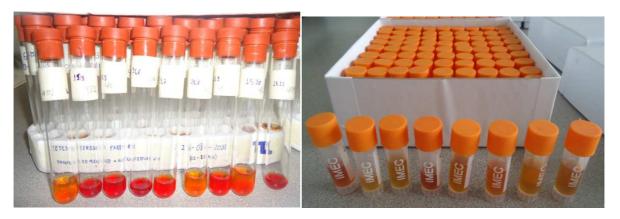


Foto 8. Suero Sanguíneo en tubos de ensayo Foto 9. Suero Sanguíneo



Foto 10. Mezcla de la prueba RB

Foto 11. Agitación de la Prueba RB

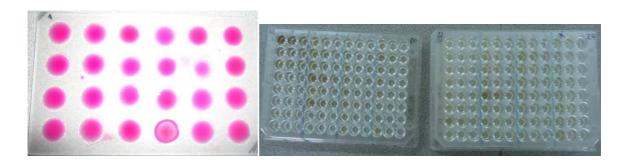


Foto 12. Resultados de la Prueba RB

Foto 13. Resultados de la Prueba SAT-EDTA