



Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha – Ecuador

Rivadeneira Espín, Paula Nicole

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

24 de agosto del 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera Agropecuaria

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha – Ecuador**; fue realizado por la señorita estudiante **Rivadeneira Espín Paula Nicole**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 24 de agosto del 2022



Firmado electrónicamente por:
**JORGE
WASHINGTON RON
ROMAN**

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

C.C: 1709505125

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos

CL_Paula Rivadeneira_Tesis final (1).docx

Scanned on: 15:31 August 24, 2022 UTC



Identical Words	96
Words with Minor Changes	128
Paraphrased Words	316
Omitted Words	0



Firmado electrónicamente por:

**JORGE
WASHINGTON RON
ROMAN**

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

C.C: 1709505125



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Rivadeneira Espín, Paula Nicole**, con cédula de ciudadanía No. 1719869875, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha – Ecuador**; es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 24 de agosto del 2022

Paula Nicole

Rivadeneira Espín, Paula Nicole

C.C: 1719869875



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **Rivadeneira Espín, Paula Nicole**, con cédula de ciudadanía No. 1719869875, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha – Ecuador**; en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 24 de agosto del 2022

Paula Nicole

Rivadeneira Espín, Paula Nicole

C.C: 1719869875

Dedicatoria

Este logro académico va dedicado a mi madre, quien, desde pequeña, me ha demostrado que con responsabilidad y perseverancia seré capaz de cumplir todas mis metas; y por todo el amor y apoyo que me ha brindado para culminar mis estudios.

También, este logro va dirigido a todos los profesores que gentilmente me brindaron espacios de aprendizajes extra, en los cuales pude superarme y crecer profesionalmente.

Y, por último, gracias a todos los amigos que hice en el camino y me han acompañado desde el primer semestre con la satisfacción de tenerlos presentes hasta el final de esta meta; principalmente a Juan Fernando H., Edgar A. y Diana C., quienes desde el primer día me extendieron su mano, confiaron en mí y nunca dejaron de alentarme en seguir adelante.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, que por medio de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA 1, me han dado la base para ser una gran ingeniera agropecuaria, y un campus que ha permitido que gane experiencia mediante el dicho “Aprender Haciendo” junto con el profesionalismo de distintos profesores que han formado parte de este camino, a quienes agradezco por su tiempo y dedicación al momento de enseñar. También agradezco a la Universidad de Lieja, que ha apoyado a este proyecto financieramente, por medio de la Academia de Investigación y Enseñanza Superior ARES de Bélgica, permitiendo que las investigaciones en el campo de Sanidad Animal en el Ecuador comiencen a tener prioridad nacional.

Mi más sincero agradecimiento a mi tutor, Dr. Jorge Ron, quien ha confiado en mí para formar parte del proyecto Bru-Tryp y para compartir sus conocimientos y vivencias que han permitido enriquecer mi experiencia profesional. Además, un agradecimiento especial a los ingenieros Jimmy Jumbo, Gabriela Morales, Andrés Mullo y a los doctores veterinarios María Augusta Chávez y Armando Reina, quienes han brindado su tiempo y apoyo en todas las actividades que he requerido, siempre con cariño y entrega al trabajo asignado, permitiendo que este proyecto de investigación se lleve a cabo. Por último, agradezco a mis compañeros de tesis que han sido de apoyo dentro del proyecto Bru-Tryp y con quienes compartí esta experiencia de vinculación con la sociedad.

Índice de Contenidos

Carátula	1
Certificación	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoria	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos	7
Índice de Contenidos	8
Índice de Tablas.....	12
Índice de Figuras	14
Resumen	15
Abstract.....	16
Capítulo I.	17
Introducción	17
Objetivos	19
Objetivo general	19
Objetivos específicos	19
Hipótesis.....	19
Hipótesis nula.....	19
Hipótesis de investigación	19
Capítulo II	20

Revisión de Literatura	20
Producción ganadera en Ecuador.....	20
Producción ganadera en el Noroccidente de Pichincha	20
Generalidades de la brucelosis.....	21
Agente causal.....	22
Reservorios animales de interés pecuario	23
Patogenia y sintomatología.....	23
Vías de transmisión, vías de ingreso y tipo de material contaminante	25
Importancia en la salud pública	26
Importancia económica.....	27
Prevalencia a nivel mundial y en América Latina	28
Prevalencia a nivel nacional	28
Factores de Riesgo.....	31
Medidas epidemiológicas en estudios transversales.....	31
Odds Ratio y Riesgo Relativo	32
Pruebas serológicas	33
Rosa de bengala	34
Suero aglutinación lenta en tubo	35
Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas	36
Medidas de prevención y control	37
Vacunación con cepa 19.....	38
Vacunación con RB51.....	39
Capítulo III	40
Metodología	40
Trabajo de campo.....	40

	10
Zona de estudio	40
Determinación del tamaño de la muestra	42
Aplicación de la encuesta epidemiológica	46
Utilización de la aplicación EpiCollect5.....	46
Recolección de la información en cada hacienda.....	47
Obtención de muestras sanguíneas	47
Trabajo de laboratorio.....	48
Obtención de suero sanguíneo.....	48
Prueba Rosa de Bengala (RBT)	49
Prueba de Suero Aglutinación en Tubo de Wright (SAT).....	51
Interpretación global de los resultados de las pruebas serológicas aplicadas	57
Análisis de la información.....	57
Determinación de la prevalencia de la enfermedad.....	58
Determinación de los factores de riesgo.....	60
Capítulo IV	61
Resultados y discusión	61
Estadística descriptiva de las muestras tomadas en las fincas del Noroccidente de Pichincha.....	61
Distribución de animales muestreados y positivos por zona, tamaño de UPA y sexo.....	61
Distribución de animales muestreados y positivos por zona y tipo de producción	63
Distribución de animales muestreados y positivos por UPA y sexo	64
Distribución de animales muestreados y positivos por edad y sexo	65
Distribución de animales muestreados y positivos por zona y tipo de bovino	66

Estadística descriptiva de la finca con mayor número de bovinos positivos a brucelosis (F14).....	67
Distribución de animales muestreados y positivos por sexo y edad	67
Prevalencia de brucelosis bovina.....	69
Prevalencia general de brucelosis bovina	69
Prevalencia de brucelosis por zona altitudinal	71
Prevalencia de brucelosis por tamaño de UPA.....	71
Prevalencia de brucelosis por tipo de producción.....	72
Prevalencia de brucelosis por tipo de bovino.....	73
Prevalencia de brucelosis por sexo	75
Prevalencia de brucelosis por edad.....	76
Factores de riesgo para el contagio de brucelosis bovina.....	77
Georreferenciación de fincas ganaderas positivas a brucelosis	81
Capítulo V	83
Conclusiones y Recomendaciones	83
Conclusiones.....	83
Recomendaciones.....	83
Bibliografía.....	85

Índice de Tablas

Tabla 1 Tabla comparativa de estudios realizados en Ecuador	30
Tabla 2 Relación entre las variables de exposición en los casos positivos y negativos dentro del estudio	32
Tabla 3 Cálculo del tamaño de la muestra aplicada al Noroccidente de la provincia de Pichincha	43
Tabla 4 Clasificación de las fincas por zonas, según la altitud.....	44
Tabla 5 Clasificación del tamaño de las fincas según el número de animales totales.....	44
Tabla 6 Porcentaje de muestreo según el número de animales totales presentes en la finca...45	
Tabla 7 Número de bovinos muestreados según el tamaño de las fincas.....	45
Tabla 8 Número total de bovinos muestreados en el Noroccidente de Pichincha	46
Tabla 9 Interpretación de los resultados observados en la prueba Rosa de Bengala	51
Tabla 10 Procedimiento para realizar la prueba SAT de rutina	53
Tabla 11 Procedimiento para realizar la prueba SAT de titulación	55
Tabla 12 Interpretación de los resultados observado en la prueba de SAT – EDTA.....	56
Tabla 13 Relación entre el grado de translucidez y Unidades Internacionales por ml.....	56
Tabla 14 Clasificación por categoría de los bovinos	59
Tabla 15 Distribución del número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona, tamaño de las UPA's y sexo	62
Tabla 16 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona y tipo de producción	64
Tabla 17 Número de hembras y machos positivos a pruebas diagnósticas, según la edad	65

Tabla 18 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona y tipo de bovino	66
Tabla 19 Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas con muestreo de un grupo de animales, según el sexo y edad	68
Tabla 20 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas de la totalidad de animales en la finca 14, según el sexo y edad	69
Tabla 21 Análisis general de brucelosis según la prueba serológica aplicada	70
Tabla 22 Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según la zona altitudinal.	71
Tabla 23 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tamaño de la UPA.	72
Tabla 24 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tipo de producción.	73
Tabla 25 Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tipo de bovino.....	74
Tabla 26 Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según el sexo.....	75
Tabla 27 Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según la edad	76
Tabla 28 Factores de riesgo asociados a la positividad de brucelosis bovina en fincas ganaderas	78

Índice de Figuras

Figura 1 Regiones epidemiológicas de brucelosis bovina en Ecuador	29
Figura 2 Dinámica de la respuesta inmune humoral contra <i>Brucella</i> spp.....	35
Figura 3 Ubicación geográfica de los cantones muestreados en la zona Noroccidental de Pichincha Ecuador	42
Figura 4 Distribución geográfica de brucelosis bovina en el Noroccidente de la provincia de Pichincha	81

Resumen

La presente investigación se desarrolló en el Noroccidente de Pichincha, para lo cual se dividió en dos zonas, la primera conformada por explotaciones ganaderas presentes en los cantones de Pedro Vicente Maldonado, Puerto Quito y San Miguel de los Bancos con una altitud promedio inferior a los 1 017 m.s.n.m., y la segunda zona conformada por explotaciones ganaderas del Distrito Metropolitano de Quito, en una altitud superior a los 1 017 m.s.n.m., dando un total de 16 fincas grandes, 29 fincas medianas y 8 fincas pequeñas que fueron muestreadas al azar y representan a 853 bovinos, sin distinción de sexo ni edad, a quienes se extrajo muestras de sangre para analizar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp., mediante las pruebas serológicas de Rosa de Bengala (RB) y Suero Aglutinación Lenta en tubo (SAT-EDTA). Los resultados obtenidos en esta investigación nos indican que la prevalencia de brucelosis en el Noroccidente de Pichincha es del 10.32%, y a nivel de finca hay una prevalencia del 64.15%, en las cuales las fincas medianas tienen mayor porcentaje de prevalencia de la enfermedad (12.11%), además, se encontró una relación directa entre el tipo de bovino y la presencia de la enfermedad a nivel de bovinos ($p=0.0017$). Por último, como parte de esta investigación, también se determinó que los principales factores de riesgo que ocasionan la presencia de animales positivos a Brucelosis, por medio del estudio de cohorte Riesgo Relativo con el cual se identificó que la falta de conocimiento acerca de la enfermedad, la ausencia de un veterinario, el hecho de no aplicar vacunas contra brucelosis y la falta de un manejo adecuado de los tejidos abortados por vacas infectadas, son los principales factores que aumentan la probabilidad de contagios en el Noroccidente de Pichincha, con un valor de $RR>1$.

Palabras clave: Brucelosis bovina, Rosa de Bengala, Prueba SAT, Riesgo Relativo

Abstract

The present investigation was developed in the Northwest of Pichincha, for which it was divided into two zones, the first made up of livestock farms present in the cantons of Pedro Vicente Maldonado, Puerto Quito and San Miguel de Los Bancos with an average altitude lower than 1,017 m.a.s.l., and the second area made up of livestock farms in the Metropolitan District of Quito, at an altitude greater than 1,017 m.a.s.l., giving a total of 16 large farms, 29 medium-sized farms and 8 small farms that were randomly sampled and represent to 853 bovines, without distinction of sex or age, from whom blood samples were extracted to analyze the presence of evidence against *Brucella* spp., through the serological tests of Rose Bengal (RB) and Slow Agglutination Serum in tube (SAT-EDTA).). The results obtained in this investigation indicate that the prevalence of brucellosis in the Northwest of Pichincha is 10.32%, and at the farm level there is a prevalence of 64.15%, in which medium-sized farms have a higher percentage of prevalence of the disease (12.11 %), in addition, a direct relationship was found between the type of cattle and the presence of the disease at the cattle level ($p=0.0017$). Finally, as part of this research, it is also extended that the main risk factors that cause the presence of animals positive for Brucellosis, through the Relative Risk cohort study with which it was identified that the lack of knowledge about the disease , the absence of a veterinarian, the fact of not applying vaccines against brucellosis and the lack of adequate handling of the tissues aborted by infected cows, are the main factors that increase the probability of contagion in the Northwest of Pichincha, with a value of $RR>1$.

Keywords: Bovine Brucellosis, Rose Bengal, SAT Test, Relative Risk

Capítulo I

Introducción

Según la (FAO, 2018), el ganado vacuno representa el 40% de la producción agrícola mundial en los países desarrollados y el 20% en los países en vías de desarrollo, favoreciendo la seguridad alimentaria de casi 1 300 millones de personas, además de que es una actividad de sustento económico para muchas familias, disminuyendo el nivel de pobreza al generar una variedad de empleos dentro del sector rural y urbano.

En el Ecuador la producción ganadera es una de las principales actividades económicas que se realizan ya que contribuyen con el 1.4% del PIB. Se estima que en nuestro país se produce un total de 300 millones de libras de carne bovina, con aproximadamente 1 760 000 cabezas de ganado (Hidalgo et al., 2020).

Según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria (ESPAC), en el año 2021 por el INEC, se ha registrado que el ganado vacuno es el líder del sector pecuario con un total de 4.07 millones de cabezas a nivel nacional. Lo mismo sucede en la provincia de Pichincha, donde 193 913 Ha tienen fines agropecuarios, siendo el ganado vacuno el sector con mayor cantidad de animales (279 929 bovinos). Por otra parte, también se menciona que Pichincha es la provincia con mayor producción de leche, aportando con 17.99% al total nacional. Además, los cantones de San Miguel de Los Bancos, Puerto Quito y Pedro Vicente Maldonado, han presentado niveles positivos de producción debido a que entes financieros como BanEcuador y otras empresas privadas han realizado varias inversiones en esta zona, permitiendo maximizar sus rendimientos con el uso nuevas tecnologías y capacitaciones (Banco Central del Ecuador, 2018).

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de gran importancia a nivel mundial que afecta tanto a las potencias mundiales como a los países en vía de desarrollo, por lo cual se han implementado distintas técnicas de diagnóstico y vacunación para lograr controlar su propagación.

Esta enfermedad es transmitida por la bacteria del género *Brucella* spp. la cual ataca a distintas especies domésticas, especialmente a los bovinos, ovinos, caprinos y al ser humano; siendo protagonista de grandes pérdidas en la producción pecuaria, debido a que causa abortos en el último periodo de gestación, baja producción de leche e infertilidad en los machos como consecuencia de orquitis o epididimitis (Servicio Agrícola y Ganadero - SAG, 2021).

La *Brucella* se aloja en los tejidos de los órganos reproductivos de los bovinos a cualquier edad, pero principalmente en aquellos animales que han iniciado con su etapa reproductiva, siendo la principal vía de transmisión el contacto directo con las secreciones vaginales, semen, sangre, fetos abortados o por medio del consumo de leche cruda o subproductos no pasteurizados (Méndez et al., 2015).

En el 2019, AGROCALIDAD realizó el muestreo de 290 predios y 3 752 hembras bovinas con lo cual determinó una prevalencia predial del 21.4% y a nivel animal del 5.7%. Por otro lado, (Escobar, 2011), menciona que en la sierra ecuatoriana existe una seroprevalencia del 1.80% y según (Poulsen et al., 2014) del 5.5%, lo cual nos indica que las medidas de control han sido deficientes y la sensibilidad de las pruebas de diagnóstico no han sido adecuadas para lograr la erradicación de dicha enfermedad. Además, en la provincia de Pichincha el (Sistema de Información Zoonosológica del Ecuador – SIZSE, 2020) reportó 10 casos de brucelosis bovina, sin embargo, es importante mencionar que no existen muchos estudios actuales en esta zona que nos indiquen porcentajes de prevalencia y los principales factores de riesgos que influyen en nuestra provincia.

Por esta razón se determinará la prevalencia y los factores de riesgo de brucelosis en explotaciones ganaderas ubicadas en el Noroccidente de la provincia de Pichincha, a través de la aplicación de las pruebas serológicas: Rosa de Bengala y SAT-EDTA; aportando a la comunidad con la identificación de fincas que se encuentren en riesgo tanto para la salud animal como la humana.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la prevalencia y factores de riesgo de brucelosis bovina en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en el Noroccidente de la provincia de Pichincha-Ecuador.

Objetivos específicos

Determinar la prevalencia de brucelosis a nivel de finca e individual, utilizando las pruebas diagnósticas, Rosa de Bengala Test (RBT) y Suero Aglutinación Lenta en tubo de Wright (SAT).

Determinar los factores de riesgo asociados a la introducción y/o mantenimiento de la brucelosis en fincas ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) a través de la aplicación de una encuesta epidemiológica.

Generar mapas de distribución geográfica sobre la prevalencia de brucelosis en fincas ganaderas del Noroccidente de Pichincha, a través de la georreferenciación espacial para la socialización de los resultados.

Hipótesis

Hipótesis nula

La prevalencia de brucelosis en explotaciones ganaderas del Noroccidente de Pichincha es nula.

Hipótesis de investigación

La prevalencia de brucelosis en explotaciones ganaderas del Noroccidente de Pichincha es alta.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Producción ganadera en Ecuador

En el Ecuador la ganadería bovina es una actividad de sustento económico para el sector rural campesino, ya que los productos de leche y carne forman parte de la canasta básica del ecuatoriano, por lo cual es una tarea importante para garantizar la seguridad alimentaria del país. Es así que, la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) indica que el sector ganadero se encuentra encabezado por la producción de ganado vacuno con aproximadamente 4 067 millones de cabezas a nivel nacional, contribuyendo con el 1.4% del Producto Interno Bruto (Hidalgo et al., 2020). Además, se conoce que el 36.66% es considerado ganado mestizo, seguido de los criollos con un 23.33% (Instituto Nacional de Estadística y Censos – INEC, 2021).

De igual forma, la ESPAC indica que la región líder de la producción de ganado vacuno es la Sierra, con 51.91%, seguido de la Costa con 39.13% y la Amazonía con 9.86%. Además, en el año 2020, la provincia de Pichincha contaba con aproximadamente 252 mil cabezas de ganado vacuno, cifra que ha incrementado para el año 2021 en aproximadamente 280 mil cabezas de ganado vacuno (Instituto Nacional de Estadística y Censos – INEC, 2021).

Producción ganadera en el Noroccidente de Pichincha

El Noroccidente de Pichincha está comprendido por 286 805 Ha, que corresponden al 30.31% de la provincia de Pichincha. Su altitud está comprendida entre los 500 m.s.n.m., en la zona de San Miguel de Los Bancos, hasta los 4 700 m.s.n.m. en el extremo Suroriental de Nono. Por otro lado, este sector está conformado por las parroquias de Nanegal, Nanegalito, Calacalí, Gualea, Pacto, Nono, Mindo y San Miguel de los Bancos (Cabezas et al., 2019).

En la actualidad, la ganadería es la actividad agropecuaria que más área ocupa en el Noroccidente de Pichincha, siendo fuente de ingresos para muchas familias de la zona; sin

embargo, debido a que se encuentra entre las estribaciones de la Cordillera de los Andes, posee una geografía con fuertes pendientes las cuales no son muy aptas para la actividad ganadera; lo que ha provocado un sobrepastoreo y una alta carga animal por hectárea, disminuyendo la capacidad productiva del suelo y ocasionando que los sistemas productivos ocupen páramos y bosques andinos produciendo fuertes modificaciones en el paisaje y afectando la provisión de agua y regulación del clima (Cabezas et al., 2019).

Generalidades de la brucelosis

Durante la guerra de Crimea, entre 1854-1856, se dio a conocer el brote de una nueva infección que se distribuyó en el Mediterráneo y principalmente en la Isla de Malta; es así que Marston en 1859 inició con varios estudios clínicos y para el año de 1863 logró describir la enfermedad a la cual se la nombró Fiebre de Malta o Fiebre mediterránea. Posteriormente en 1886, David Bruce fue el primero en descubrir el agente causal a partir del bazo de un cadáver humano, encontrando un germen Gramnegativo al cual se lo denominó *Micrococcus melitensis* debido a su forma cocoide. Años más tarde, en 1897 Wright y Semple desarrollaron un método de diagnóstico basado en la aglutinación del suero sanguíneo de las personas enfermas sobre cultivos *Micrococcus melitensis* (Ruiz, 1954).

Debido a que los casos incrementaban por todo el Mediterráneo, en 1904 se creó una comisión dirigida por Bruce, con la que descubrieron que en el suero, leche y orina de las cabras se encontraba aglutinado este agente causal; prohibiendo el consumo de leche cruda de cabra. Sin embargo, la incidencia de la enfermedad no disminuyó significativamente (Ruiz, 1954).

Por otro lado, en Estados Unidos de 1897, el Dr. Bang inició los estudios de la enfermedad en bovinos que presenciaban abortos espontáneos, aislando el agente causal de la secreción uterina de la vaca abortada, encontrando un germen de forma bacilar Gramnegativo, nombrado como bacilo de Bang y más tarde conocido como *Brucella abortus*. De igual forma se presenció esta bacteria al aislarla de la leche de vacas infectadas y de las

amígdalas de los niños que bebían esta leche cruda, demostrando una notable semejanza entre la infección caprina (*Micrococcus melitensis*) y la infección bovina (bacilo de Bang) alertando a la salud pública. Además, en 1914 Traum aisló el germen del ganado porcino al cual se nombró como *Brucella suis* (Ruiz, 1954).

Es así que, en 1917, Miss Evans realizó una comparación entre el bacilo de Bang y *Micrococcus melitensis*, determinando que eran virulentos para especies animales específicas e inclusive para el hombre, con lo cual propusieron la creación del género de bacterias *Brucella*, en honor a Bruce, en la que se encuentran tres principales especies: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* y *Brucella suis* (Ruiz, 1954).

En la actualidad, las dos principales especies que causan brucelosis en bovinos se encuentra distribuida en todo el mundo, sin embargo, los países desarrollados han logrado controlar su propagación; siendo aún un problema de sanidad en el Medio Oriente, África, Asia, América Central y América del Sur. En el caso de *Brucella abortus*, se encuentra distribuida en todo el mundo excepto en Japón, Canadá, Australia, Nueva Zelanda e Israel; la *Brucella melitensis* está distribuida por todo el Mediterráneo, Asia Central, Medio Oriente y América Central (Center for Food Security & Public Health - CFSPH, 2009).

Agente causal

El microorganismo causante de la enfermedad de brucelosis es una bacteria del género *Brucella* spp., que se desarrolla en temperaturas de 37°C con pH entre 6.6 a 7.4. Mide aproximadamente 1.5 µm de longitud y 0.6 µm de diámetro, además, debido a su forma esférica y algo alargada, pertenecen al grupo de bacterias Gramnegativo cocobacilos (Freer & Castro, 2001).

Estas bacterias son microorganismos intracelulares inmóviles que se alojan en el interior de las células evitando la acción de los medicamentos y de los anticuerpos propios del sistema inmunológico de los animales, ocasionando que la infección se vuelva crónica y afecte a las glándulas mamarias, útero e hígado (Padrón et al., 2011).

Reservorios animales de interés pecuario

Existen distintas especies de *Brucella*, las cuales se diferencian según el huésped y su morfología; dentro de las cepas lisas tenemos: *Brucella melitensis*, que afecta a caprinos, ovinos y bovinos; *Brucella abortus*, afecta a bovinos y caprinos; *Brucella suis*, que afecta a porcinos, liebres y renos; *Brucella neotomae*, que afecta a ratas del desierto; mientras tanto, dentro de las cepas rugosas tenemos: *Brucella canis*, exclusiva de los perros y *Brucella ovis*, exclusiva de las ovejas (Guerrero Casagualpa et al., 2020).

La especie que causa la brucelosis bovina se conoce como *Brucella abortus*, descubierta por Bang, por lo cual lleva el nombre de Enfermedad de Bang o Aborto contagioso ya que afecta al ganado de leche y carne causando abortos espontáneos, retención de placenta e infertilidad. Esta especie también puede contagiar a otros rumiantes y al ser humano, ya sea por el consumo de productos lácteos sin pasteurizar o por el contacto directo con secreciones vaginales de la vaca infectada (García et al., 2013). De igual forma las especies *B. melitensis* y *B. suis* pueden accidentalmente infectar a bovinos que se encuentran en un ambiente cercano con ovejas, cabras o cerdos infectados.

La *Brucella* se ubica en las glándulas mamarias de las vacas incrementando la facilidad de excretar bacterias al medio ambiente, las cuales pueden sobrevivir durante varias semanas, especialmente si el medio es frío o húmedo, ocasionando que la enfermedad se propague y cause pérdidas productivas de gran importancia económica (Córdova et al., 2020).

Patogenia y sintomatología

En bovinos de temprana edad, que aún no han iniciado su etapa reproductiva, no suelen presentarse síntomas de la enfermedad; sin embargo, en la mayoría de hembras gestantes que han sido infectadas por *B. abortus* o *B. melitensis* se producen abortos en el último tercio de gestación, e inclusive se han reportado casos en los cuales las siguientes gestaciones ocurren de manera normal o nunca llegan a presentarse abortos, pero sus líquidos fetales, secreciones vaginales, así como también glándulas mamarias y ganglios linfáticos, se encuentran invadidos

por estas bacterias, provocando la expulsión y propagación de los microorganismos hacia el medio (Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE, 2018).

Según (Biberstein & Chung, 1994), las bacterias que ingresan al organismo del animal son englobados por las células fagocitarias, en donde se multiplican, y luego son transportadas hacia los ganglios linfáticos regionales, donde continúan su multiplicación y diseminándose por el torrente sanguíneo hasta localizarse en el tracto reproductor.

(Henderson, 1988), menciona que *Brucella abortus* se localiza principalmente en el útero grávido y ubres de las vacas; en los testículos y glándulas sexuales de los toros o en los ganglios linfáticos y capsulas articulares. En el caso de las vacas adultas que no han sido preñadas, las ubres infectadas son clínicamente normales, sin embargo, se consideran fuente de reinfección del útero, y fuente de infección para terneros y el ser humano que ingiere la leche.

Por otro lado, la sustancia química que produce el feto en el interior del útero, conocida como eritritol, es la que estimula el crecimiento de *Brucella abortus*, siendo promotora de la infección de placenta y líquidos fetales, causando inicialmente endometritis ulcerosa grave entre los cotiledones placentarios; con una destrucción de las vellosidades, dando como resultado el aborto; por lo cual se considera que el periodo de incubación de esta bacteria es inversamente proporcional a la etapa de gestación al momento de la infección (Escobar, 2011).

Se conoce que el principal síntoma en vacas infectadas es el aborto espontáneo a partir del sexto mes de gestación y en menor frecuencia entre las ocho a doce semanas de gestación; además, se ha evidenciado que las alteraciones que se producen en las glándulas mamarias ocasionan baja producción de leche e inclusive indicios de mastitis (Hutyra & Manniger, 1973). Existen casos en los cuales las vacas no abortan, pero los terneros nacen débiles, hay retención de placenta, infecciones uterinas dando como resultado que las tasas de preñez y producción disminuyan notablemente (California Department of Food & Agriculture - CDFA, 2021).

En el caso de los machos, los síntomas que se pueden presentar son orquitis, epididimitis o inflamación de la vesícula seminal, siendo causa de infertilidad y disminución del apetito sexual (Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal - SENACSA, 2017). Por otro lado, los síntomas generales, tanto en hembras como machos, pueden ser higromas, los cuales ocasionan problemas de articulación en las extremidades ya que los líquidos pueden contener *Brucella abortus* (Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE, 2018).

Vías de transmisión, vías de ingreso y tipo de material contaminante

B. abortus y *B. melitensis* son transmitidas entre animales, por el contacto directo con tejidos, sangre, líquidos fetales, placenta y descargas vaginales que provengan de vacas infectadas. Las bacterias al invadir el aparato reproductor de estos rumiantes, ocasionan que al finalizar con el periodo normal de gestación o al presentar un aborto, los tejidos y secreciones que son expulsados liberen *Brucella* spp. al medio ambiente, infectando al pasto y dando oportunidad de que otras vacas o animales, por vía oral, puedan infectarse de brucelosis al lamer el material contaminado o al limpiar a los terneros recién nacidos, debido al instinto materno que presentan las vacas en los primeros días de parto. Otra vía de transmisión es por medio del semen, un macho que se ha infectado con líquidos o tejidos contaminados puede eliminar bacterias de *Brucella* durante la copula o en la orina, sin embargo, se considera que la transmisión venérea no es común en bovinos (Center for Food Security & Public Health - CFSPH, 2009). También, se ha evidenciado que al momento del estro, etapa de celo en las vacas, existe el instinto animal de olfatear o lamer los órganos sexuales, ocasionando que esta sea otra vía de transmisión de la enfermedad entre vacas y toros (Paredes, 2021).

Según (Rivera et al., 2004), esta enfermedad se transmite entre animales que se encuentran libres en pastoreo, por medio de la ingestión de pastos o agua que ha sido contaminada por secreciones, membranas fetales o fetos abortados de vacas positivas a *Brucella* spp., ya que son bacterias que pueden sobrevivir durante varios meses a bajas temperaturas y alta humedad. También puede transmitirse mediante técnicas de reproducción,

como son la inseminación artificial o la monta natural con un toro infectado o inclusive la madre que padece de brucelosis puede transmitir la infección a su cría en el momento de gestación al estar en un útero contaminado o al momento de lactancia.

También, hay que tomar en cuenta que existen vacunas que, si son administradas de manera incorrecta, pueden ocasionar infecciones no deseadas en los bovinos, por ejemplo, la Cepa 19 al ser derivada de un aislamiento de *B. abortus* puede inducir a síntomas clínicos de brucelosis, ya que es una cepa viva que provoca la activación de los anticuerpos, IgM y luego IgG, mediante la respuesta inmune humoral; ocasionando que los animales (inclusive el hombre) que han recibido mal las dosis o incompleto el tratamiento, se infecten de manera directa a pesar de no tener contacto con material infectado (Olsen, 2000).

Importancia en la salud pública

La brucelosis es una zoonosis que puede transmitirse al ser humano, convirtiéndolo en hospedador secundario, por medio del contacto directo con secreciones vaginales, transfusiones sanguíneas, inhalación de las bacterias o por el consumo de leche cruda y subproductos, como queso o yogurt no pasteurizados. Por esta razón, la Organización Internacional del Trabajo colocó a la brucelosis en la lista de enfermedades profesionales causadas por la exposición a agentes presentes en actividades ocupacionales como agropecuarios, médicos veterinarios, personal de faenamiento, carniceros, personal de laboratorio u otras profesiones que se encuentran en contacto con los animales vivos o muertos que padecen de la enfermedad (Méndez et al., 2015).

Brucella melitensis, *Brucella abortus* y *Brucella suis* de los biotipos 1-4, son las especies que más prevalecen como causa de contagio a humanos; se considera que es debido a la dificultad que existe en inmunizar a los animales que se encuentran en sistemas extensivos; o debido a la mala práctica pecuaria al momento de vacunar a los animales con cepas que son patógenas para los humanos (Center for Food Security & Public Health - CFSPH, 2009).

La enfermedad en humanos es difícil de identificar inmediatamente, ya que puede manifestarse de forma subclínica, subaguda, aguda o crónica; porque su periodo de incubación varía entre 5 días hasta 3 meses; siendo los primeros síntomas fiebre, dolor de cabeza, dolor de espalda, mialgia, diaforesis, cansancio, entre otros síntomas similares a una gripe; después puede darse una infección localizada ocasionado artritis, endocarditis u orquitis o epididimitis en el caso de los hombres (Freer & Castro, 2001).

Importancia económica

La brucelosis es una enfermedad que causa pérdidas económicas de gran importancia para los ganaderos, estas pueden ser directas e indirectas, ya que, al afectar a la parte reproductiva de los bovinos, ocasiona problemas en la fertilidad de las vacas, como son: abortos, bajos índices de preñez, descarte de animales infectados, pérdida de peso, disminución en el número de terneras destinadas al reemplazo, bajas producción de leche, entre otros. Estos problemas son muy importantes dentro de una finca ganadera, por ejemplo, el síntoma principal de la enfermedad son los abortos, al presentarse en el último periodo de gestación, es decir entre los 7 a 9 meses, ocasionan que los días abiertos en las fincas incrementen, y por ende la producción de leche de la finca disminuya sustancialmente en aproximadamente un 25% (Seleem et al., 2010). Además, hay que tomar en cuenta que la pérdida no es solo en producción, sino también en animales, si el objetivo del productor, en una finca lechera, es incrementar el número de hembras u obtener animales de reemplazo, esto también se ve afectado por causa de los abortos. Es así que la competitividad en la comercialización nacional de bovinos en pie y productos derivados de la leche disminuirá, afectando la económica de los ganaderos (Servicio Agrícola y Ganadero - SAG, 2021).

En el Ecuador se estima que la pérdida anual por causa de brucelosis bovina es de aproximadamente 5.5 millones de dólares debido a los abortos, baja producción de leche y mortalidad (R. Rodríguez et al., 2015).

Prevalencia a nivel mundial y en América Latina

La brucelosis es una enfermedad que se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, sin embargo, (Y. Rodríguez et al., 2005) indica que es difícil conocer con exactitud el grado de difusión, debido a la falta de medidas de control y notificación de la enfermedad, dentro de los distintos países; por esta razón, la prevalencia de *Brucella abortus* se encuentra entre el 10% al 30% en Europa y con porcentajes similares en América Latina. Las regiones con mayor prevalencia animal son: el Mediterráneo, Asia occidental, África y América Latina; donde la enfermedad se considera endémica, mientras que existen países que ya se consideran libres de brucelosis como, por ejemplo, Inglaterra, Japón, Canadá, Nueva Zelanda y algunos países del norte de Europa (Lopetegui, 2005).

En Latinoamérica la prevalencia de brucelosis bovina oscila entre el 0.5% a 10% (Lucero et al., 2008), siendo Uruguay el país con menor prevalencia, 0.04%, seguido de Chile con 0.2%, Argentina con 2.10%, Bolivia con 2.27%, Paraguay con 3.15%, Brasil con 0.06% (sur) y 10.20% (norte) y Colombia con 5% (Aznar et al., 2014), (Barrera & Guerrero, 2007).

Prevalencia a nivel nacional

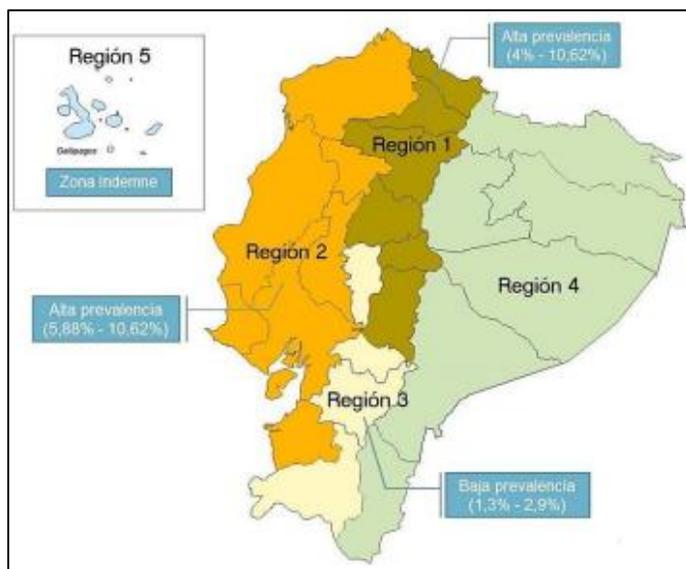
En el (Programa Nacional de Sanidad Animal - PNSA, 1979), se realizó una clasificación por regiones según la prevalencia de brucelosis bovina detectada, entre las cuales tenemos:

- Región 1: alta prevalencia, entre el 1.97% al 10.62%, constituido por las provincias de Carchi, Pichincha, Imbabura, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo.
- Región 2: alta prevalencia, entre el 4.2% al 10.62%, conformada por las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Manabí, Los Ríos, El Oro, Guayas y Santa Elena.
- Región 3: baja prevalencia, entre el 1.3% al 2.6%, conformada por las provincias de Bolívar, Azuay, Cañar y Loja.

- Región 4: baja prevalencia, esta región está constituida por las provincias de la amazonia ecuatoriana, sin embargo, debido a la falta de estudios en esta zona, no hay datos exactos sobre la prevalencia de la enfermedad.
- Región 5: indemne, conformada por las Islas Galápagos, principalmente la Isla Santa Cruz, Isabela y San Cristóbal, en las cuales se realizaron estudios determinando que están libres de brucelosis.

Figura 1

Regiones epidemiológicas de brucelosis bovina en Ecuador



Nota: Imagen recuperada del Programa Nacional de Sanidad Animal realizado en 1979.

En Ecuador la brucelosis bovina es considerada una enfermedad endémica, de alta prevalencia, según (AGROCALIDAD, 2019) en un muestreo realizado a 290 predios y 3 752 hembras bovinas se determinó que la prevalencia nacional es de 21.4% nivel predial y 5.7% a nivel animal. Por otro lado, el Programa Nacional de Sanidad Animal indica que las regiones que poseen mayor número de casos de infectados son la Sierra y Costa, en donde los porcentajes se encuentran entre 1.97% al 10.62%; valores que son preocupantes para las

entidades de salud pública, debido a que la Sierra es considerada la región con mayor producción de leche destinada al consumo nacional.

Existen varios estudios que se han realizado en el Ecuador, acerca de la prevalencia de brucelosis bovina en distintas provincias, entre los estudios más actuales realizados, podemos mencionar los siguientes:

Tabla 1

Tabla comparativa de estudios realizados en Ecuador

Año	Provincia	Cantón	Número de muestras		Pruebas serológicas aplicadas	Prevalencia		Autores
			Finca	Animales		A nivel de finca	A nivel de animales	
2018	Carchi	Montúfar	30	380	Fluorescencia Polarizada	ND	7.10%	(Gonzáles)
2017	Carchi	Espejo	90	369	Rosa de Bengala Antígeno Bafeado en Placa cELISA	5.56%	2.17%	(Acosta)
2017	Cañar	Azogues Biblián	44	447	Rosa de Bengala cELISA Aglutinación Lenta en Tubo	13.63%	4.25%	(Mainato)
2015	Manabí	Chone El Carmen Sucre Jama	163	317	Rosa de Bengala cELISA	1.06%	1.10%	(Zambrano & Pérez)
2015	Guayas	Naranjal	ND	500	Rosa de Bengala	0%	0%	(Barros)
2014	Chimborazo	Sigchos	2	98	Rosa de Bengala cELISA	12.04%	6.02%	(Burgasí)
2014	Carchi	ND	77	609	Rosa de Bengala	17.72%	3.94%	(Salguero)
	Imbabura		114	809	Aglutinación Lenta en Tubo	3.48%	0.99%	
	Esmeraldas		86	1303	Tubo	33.72%	5.53%	
2013	Manabí	Pichincha	20	300	Rosa de Bengala PCR	ND	22%	(Cevallos & Vera)
2011	Carchi	ND		1 702	Aglutinación Lenta en Tubo		3.11%	
	Imbabura			933	Tubo	ND	1.71%	(Escobar)
	Pichincha			7 264	Rosa de Bengala		2.31%	

Nota: ND: valores no determinados en el estudio.

Factores de Riesgo

Para poder determinar los riesgos que determinadas especies tienen ante circunstancias que provoquen enfermedad o muerte, se ha desarrollado una técnica de análisis epidemiológico, conocida como análisis de riesgo, en la cual se determinan los factores que provocan la evolución o presencia de una enfermedad. Es así que, el concepto de riesgo hace referencia a la probabilidad de que ocurra un fenómeno indeseado que puede ocasionar daño a la especie y los cuales son estimados mediante tasas de prevalencia (Plaut, 1984).

Por lo tanto, los factores de riesgo son características o circunstancias que están asociadas a un bovino o un grupo de bovinos, ocasionado un aumento en la probabilidad de exposición a desarrollar una determinada enfermedad (Senado, 1999).

Medidas epidemiológicas en estudios transversales

Los estudios transversales son usados en investigaciones médicas, ya que permiten relacionar las posibles determinantes que causan la enfermedad que se está investigando (Álvarez & Delgado, 2015). Existen dos tipos de estudios: los descriptivos y los analíticos, dentro de estos se encuentran los estudios transversales, los cuales son evaluados en un momento y tiempo específico; caso contrario a los longitudinales que involucran el seguimiento en el tiempo. Para determinar la prevalencia de una enfermedad, los estudios transversales son los indicados e inclusive pueden analizar la relación entre dos o más variables permitiendo explorar distintos escenarios de recursos limitados (Cvetković Vega et al., 2021).

Dentro de los estudios transversales podemos encontrar los de tipo descriptivo en los cuales solo se determina la prevalencia de la enfermedad en la población de estudio, y los de tipo analítico en los que se examina la relación entre una variable de exposición y la presencia de la enfermedad, sin embargo, no permite definir con exactitud la casualidad de la enfermedad frente a los factores de riesgo detectado, debido a la ambigüedad temporal al momento de recolectar esa información (Álvarez & Delgado, 2015).

Odds Ratio y Riesgo Relativo

Dentro de las investigaciones en el área de salud, existen distintas probabilidades de que una enfermedad se presente con mayor frecuencia en un grupo específicos, científicamente esto se define como la asociación entre un evento y la vulnerabilidad que presenten los individuos, el cual puede ser cuantificado por: Riesgo Relativo (RR) y Odds Ratio (OR) (Aedo et al., 2010).

Se define como “Odds” a la forma alternativa de expresar la probabilidad de que ocurra un evento de interés o la presencia de una exposición; son normalmente usados en estudios transversales, cuando la enfermedad tiene una prevalencia menor al 10% (Cerdeira et al., 2013).

Por otro lado, cuando la prevalencia de la enfermedad es superior al 10% se recomienda usar la medida de Riesgo Relativo, el cual tiene el mismo criterio de interpretación, con la diferencia de que este identifica la magnitud o fuerza de asociación, permitiendo comparar la frecuencia con la que se presentará la enfermedad si los sujetos se encuentran expuestos al factor de riesgo; razón por la cual es usada especialmente en trabajos prospectivos (Dagnino, 2014).

Tabla 2

Relación entre las variables de exposición en los casos positivos y negativos dentro del estudio

	Positivos	Negativos
<i>Expuestos</i>	A	B
<i>No expuestos</i>	C	D

Nota: Recuperado de (Guaicha & Idrovo, 2013)

Según (Guaicha & Idrovo, 2013), la determinación del OR dentro de una investigación se basa en el cociente entre dos Odds, el primero Odds que determina la exposición que ha sido observada en los casos positivos a la enfermedad y el segundo Odds que determina la exposición en el grupo de control, es decir aquellos que no resultaron positivos a la enfermedad; es decir:

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

En donde:

- Odds de exposición en casos positivos = $\frac{\text{Positivos que están expuestos (A)}}{\text{Positivos que no están expuestos (C)}}$
- Odds de exposición en casos negativos = $\frac{\text{Negativos que están expuestos (B)}}{\text{Negativos que no están expuestos (D)}}$

Con lo cual, los Odds Ratio se calcula con la siguiente fórmula:

$$OR = \frac{A/C}{B/D} = \frac{A * D}{C * B}$$

Por otro lado, el Riesgo Relativo es la razón entre el número de casos con el resultado de interés, sobre el número total de casos; dando como resultado una proporción que compara el riesgo de un grupo con otro (Dagnino, 2014), La fórmula que se aplica en este método es:

$$RR = \frac{A/A + C}{B/B + D} = \frac{A * (B + D)}{(A + C) * B}$$

Pruebas serológicas

Las pruebas diagnósticas se utilizan con distintos objetivos, ya sea para detectar una enfermedad, realizar estudios de prevalencia o para certificación; existen dos tipos de diagnósticos: los directos en los cuales se realizan análisis microbiológicos, o los indirectos que se aplican *in vitro* o *in vivo* (Godfroid et al., 2010). Las pruebas serológicas son parte de los diagnósticos indirectos, ya que no se observa o aísla la bacteria de interés, sino se basa en la detección de anticuerpos específicos en una muestra de suero.

Según la (Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE, 2018), todas las pruebas serológicas tienen limitaciones al momento de detectar la enfermedad en animales, sin embargo, para poder identificar la mejor prueba a utilizar, se debe tener en cuenta diversos factores que influyen en la eficacia de los resultados de la prueba. Para el control de brucelosis a nivel nacional se recomienda el uso de la prueba de Rosa de Bengala (RB), así como

también las pruebas ELISA. Por otro lado, la OIE menciona que el uso de SAT no es recomendado debido a que se considera inferior a otras pruebas estándar. De esta forma, dependiendo del objetivo de la prueba, los resultados que sean positivos deben ser confirmados nuevamente con otro método complementario.

Es importante tener en cuenta que todas las pruebas tienen distintos porcentajes de sensibilidad y especificidad, lo cuales pueden resultar por la dosis y vía de infección, la presencia de bacterias de reactividad cruzada, la cinética de la respuesta inmune inducida o una vacunación previa por lo cual es necesario conocer (Saegerman et al., 2004). Por esta razón es necesario tener en cuenta que tipos de anticuerpos detectan cada prueba, ya que las respuestas humorales de los anticuerpos IgG se encuentran presentes durante las 3 a 4 semanas después de la infección y persisten por varios años; en cambio los anticuerpos IgM se presentan de manera rápida, entre las 2 a 3 semanas después de la exposición con el material infeccioso y pueden desaparecer después de varios meses (Sutherland, 1984).

Rosa de bengala

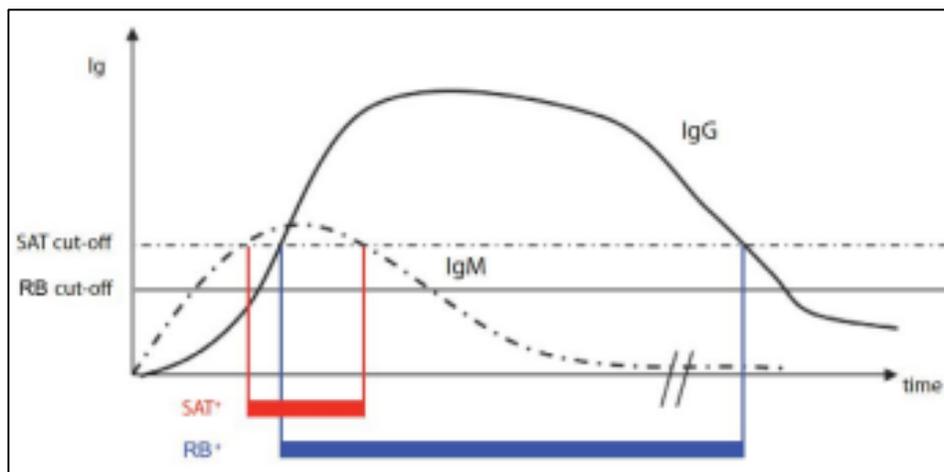
Es una prueba que se fundamenta en la aglutinación del antígeno, mediante la reacción antígeno-anticuerpo; en donde el antígeno es una suspensión de *Brucella abortus* cepa 99 de Weybridge, que mediante el colorante rosa de bengala permite la observación de la reacción con los anticuerpos IgG, debido al pH ácido del reactivo (3.65 ± 0.05); siendo muy efectivo en el diagnóstico de individuos en fase crónica de la enfermedad (Ron, 2018). Para realizar esta prueba se requiere una muestra de suero sanguíneo, que junto al antígeno deben estar a temperatura ambiente, entre los $22 \pm 4^\circ\text{C}$; y también se deben homogenizar antes de su uso (Ibarra Rosero et al., 2021). Es una prueba que en aproximadamente 5 minutos nos permite obtener los resultados; con una sensibilidad del 87% y especificidad del 97.8% (Godfroid et al., 2010). Los resultados falsos negativos pueden estar relacionados con el tiempo y evolución de la enfermedad, es decir aquellos animales que fueron recientemente infectados pueden resultar negativos.

Suero aglutinación lenta en tubo

Es una prueba indirecta, también conocida como SAT, que permite detectar anticuerpos en placas de microtitulación; se basa en la respuesta humoral que se da en las fases iniciales de la infección en donde están presentes los anticuerpos IgM, debido a esto se considera que es una prueba efectiva en el diagnóstico de individuos en fase aguda de brucelosis, es decir entre los 10 a 12 días. Tiene el mismo fundamento de aglutinación que la prueba de Rosa de Bengala, ya que forma el complejo antígeno – anticuerpo, precipitando en la parte inferior del pocillo. Sin embargo, se diferencia en el tiempo de lectura de resultados, ya que la prueba SAT requiere de 20 horas de incubación a 37°C en un ambiente húmedo, para poder expresar los resultados en Unidades Internacionales por mililitros (Ron, 2019a). La sensibilidad de esta prueba es del 81.5% y especificidad del 98.9% (Godfroid et al., 2010).

Figura 2

Dinámica de la respuesta inmune humoral contra Brucella spp.



Nota: RB cut-off: Se consideran positivos a la prueba de Rosa de Bengala todas las muestras que presenten aglutinación al momento de reaccionar con el antígeno presente en el reactivo de Rosa de Bengala; SAT cut-off: Se consideran positivos a la prueba de Suero Aglutinación en Tubo de Wright a todas las muestras ≤ 30 UI/ml. Imagen obtenida de (Godfroid et al., 2010).

Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas

Es conocida como ELISA, el cual es una prueba inmunológica que permite detectar la presencia de antígenos o anticuerpos en muestras biológicas (Ibarra Rosero et al., 2021) .Su fundamento se basa en que los anticuerpos son los encargados de detectar el antígeno; esto sucede de la siguiente forma: el antígeno se inmoviliza en una superficie sólida mediante el uso del anticuerpo de captura conjugado con una molécula susceptible a ser detectada como una enzima o un fluoróforo, dando como resultado la reacción anticuerpo- antígeno (Ron, 2019b). Existen varios tipos de ELISAS, entre los cuales tenemos:

cELISA

Es conocido como Inmunoensayo Competitivo, el cual mide la concentración del antígeno mediante la detección de interferencias en la señal. Se basa en que el antígeno de la muestra compite con un antígeno de referencia, el cual se prepara a partir de cepas lisas de *Brucella* y se recubre en una placa con varios pocillos antes de iniciar con el ensayo, para unirse a una cantidad específica de anticuerpo marcado, que fue pre-incubado junto con la muestra y añadido a los pocillos (Ron, 2019b) .La concentración dependerá de la cantidad de antígeno que contenga la muestra en estudio, ya que de esto dependerá la cantidad de anticuerpos libres que están disponibles para unirse al antígeno de referencia, es decir que, si la muestra tiene una gran cantidad de antígenos, existirá menos antígeno de referencia con lo cual la señal será más débil (Ibarra Rosero et al., 2021). Su sensibilidad es del 95.2% y su especificidad del 99.7% (Godfroid et al., 2010).

iELISA

Es conocida como ELISA indirecto, tiene el mismo fin que el cELISA, con la diferencia de que para la producción de los antígenos se debe utilizar la cepa 99 de *Brucella abortus* de Weybridge o la cepa 16M de *Brucella melitensis* (Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE, 2018). Los ELISAS indirectos tienden a detectar principalmente los anticuerpos IgG o subclases. Son muy recomendadas debido a que tiene una alta sensibilidad, con 97.2% y

especificidad que se encuentra entre el 97.1% al 99.8%; sin embargo, pueden presentarse reacciones cruzadas con la infección YO9, razón por la cual se crearon las cELISA que son más específicos (Godfroid et al., 2010).

Medidas de prevención y control

La brucelosis al ser una enfermedad infecciosa y zoonótica, se debe tener cuidado en el manejo animal para evitar contagios a otras especies y especialmente al ser humano. Los principales métodos de control y prevención se basan en vacunar a hembras, realizar diagnósticos y eliminar los animales que resulten positivos a los mismos (Calderón et al., 2015).

El momento principal en el que hay una gran liberación de bacterias de *Brucella* spp. al medio ambiente, es durante un aborto, por lo cual se debe aislar a las vacas preñadas que se encuentre en el sexto mes de gestación con el objetivo de predecir el aborto y de esta forma eliminar con facilidad el material infeccioso (Godfroid et al., 2010).

Según la OIE, la brucelosis es una enfermedad de control oficial, por lo que cada animal infectado debe ser declarado obligatoriamente; es así que, en el Ecuador, el (Ministerio de Agricultura, Ganadería, 2008), indica las medidas necesarias que se deben tomar en cuenta para prevenir, controlar y erradicar la enfermedad en la ganadería nacional.

Dentro de la Resolución No. 025, el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria – SESA, indica que la vacunación contra la Brucelosis bovina es de carácter obligatorio en todo el Ecuador continental, de esta forma, terneras entre tres a seis meses de edad se deben vacunar con la Cepa 19 e identificar de manera permanente; esta actividad que se realiza con ayuda de veterinarios o profesionales que son afines al sector pecuario y que estén autorizados por el SESA para dar certificado de vacunación. Por otro lado, en el caso de las pasteurizadoras, plantas queseras, centros de acopio de leche, camales, ferias comerciales y de exposición de ganado que comercialicen carne, pies de cría o reproductores; deben exigir el carnet de vacunación contra brucelosis para poder movilizar y comprar leche, carne o animales. Además, en el Ecuador, las pruebas diagnósticas oficiales para detección de brucelosis

bocinan son: Prueba de anillo en leche y Rosa de Bengala, mientras que las pruebas confirmatorias son cELISA u otras aprobadas por la OIE y supervisadas por el SESA (Ministerio de Agricultura, Ganadería, 2008).

Para lograr evitar la infección de brucelosis bovina en el hato se debe tener en cuenta que los nuevos animales que ingresen a las fincas deben provenir de explotaciones certificadas como libres de brucelosis, además se recomienda que nuevos animales sean aislados durante un mes y se les realice pruebas diagnósticas para descartar casos de positividad en el hato. En Estados Unidos se logra eliminar la bacteria causante de brucelosis a partir de desinfectantes compuesto de hipoclorito de sodio 2.5%, etanol 70%, sosa cáustica 3%, suspensión de cal apagada 20% o solución de formaldehido 2% (Center for Food Security & Public Health - CFSPH, 2009).

El mejor método de prevención y control de la enfermedad es la vacunación de los animales; para esto existen dos tipos de vacunas que son usadas a nivel mundial: cepa 19 y RB51. El Programa Nacional de Brucelosis Bovina de Colombia, indica que la cepa 19 debe aplicarse a terneras entre los 3 a 9 meses de edad; mientras que la cepa RB51 se recomienda a partir de los 9 a 15 meses de edad (Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 2022).

Vacunación con cepa 19

La vacuna a base de la cepa 19 contiene un aislamiento de *Brucella abortus* que es menos virulenta que las cepas que encontramos naturalmente en el campo. La inmunización con esta cepa le da al animal una protección significativa y duradera de por vida contra la brucelosis causada por *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*; protegiendo a las vacas contra los abortos e infecciones. La edad adecuada de vacunación es en terneras que se encuentran entre los 3 a 6 meses de edad, con una dosis única de 5×10^{10} microorganismos viables, vía subcutánea; en caso de que se desee aplicar a ganado adulto, la dosis optima es de 3×10^9 microorganismos viables, vía conjuntival (Nicoletti et al., 1978). Sin embargo, existen desventajas como, por ejemplo, un animal vacunado con cepa 19 resultará positivo a las

pruebas serológicas aplicadas en campo, evitando la diferenciación con falsos positivos, lo cual puede persistir hasta la edad adulta; otro caso que se ha reflejado con la vacunación de esta cepa es que un pequeño porcentaje de terneras presentan artritis que persiste hasta la edad adulta. A pesar de estas desventajas, los programas de control con cepa 19 han resultado beneficiosas a nivel mundial, ya que entre el 65% a 70% de animales vacunados resultan protegidos, reduciendo en un 80% la infección en los animales y en un 20% a nivel de hato (Olsen, 2000).

Vacunación con RB51

La vacuna a base de la cepa RB51 fue aislada de la cepa 2308 de *Brucella abortus*, en un medio de ripamficina y penicilina; debido a esto la vacunación con esta cepa no provoca que los animales resulten con falsos positivos ante las pruebas de diagnóstico. Cada país tiene distintas dosis de administración, sin embargo, la recomendada es de 3.4×10^{10} microorganismos viables, vía subcutánea, a terneros entre los 4 a 12 meses de edad. Cuando se desea vacunar a animales mayores a 12 meses de edad se utilizan dosis de 3×10^9 microorganismos viables, vía subcutánea, con repetición cada año (United States Department Of Agriculture - USDA & Animal And Plant Health Inspection Services – APHIS, 2003). Dentro de las ventajas de vacunar con RB51 tenemos que, los animales que se infectan con cepas que se encuentran en el campo, pueden ser detectados por medio de pruebas serológicas, a diferencia que la cepa 19; Otra ventaja que presenta la vacunación con RB51 es que protege contra *Brucella suis* en cerdos y contra *Brucella melitensis* (Olsen, 2000). Sin embargo, existen desventajas al aplicar dosis completas vía intravenosa, ya que inducen a la placentitis, provocan infección placentaria grave, abortos e inclusive muerte perinatal en vacas gestantes que han sido vacunadas (Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE, 2018).

Capítulo III

Metodología

Trabajo de campo

Zona de estudio

El presente estudio se realizó en cuatro cantones del Noroccidente de la provincia de Pichincha. En el cantón Pedro Vicente Maldonado se muestrearon 24 fincas, en el cantón Distrito Metropolitano de Quito 20 fincas, en el cantón San Miguel de Los Bancos 8 fincas y por último en el cantón Puerto Quito 1 finca; dando un total de 53 fincas muestreadas en la zona del Noroccidente de Pichincha.

Ubicación geográfica

El cantón Pedro Vicente Maldonado se encuentra en la región subtropical del Noroccidente de Pichincha, en las coordenadas 79° 00' 00" O y 0° 10' 00" N; a una altitud entre los 600 a 1 100 m.s.n.m. Su clima es cálido húmedo, con temperaturas promedio de 24°C y una humedad entre 84.5% al 87.5% con precipitaciones anuales entre 3 300 y 3 800 mm. Debido a estas características agroecológicas, existe una gran cantidad de biomasa herbácea por hectárea lo cual ha facilitado buenos rendimientos en la producción ganadera de leche y carne; predominando las razas Holstein, criollas o mestizas y en menor cantidad las razas Normando, Brown Swiss, Brahaman, Jersey, entre otras, que están destinadas al doble propósito (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Pedro Vicente Maldonado, 2021).

El cantón San Miguel de Los Bancos se encuentra en la región del bosque húmedo tropical del Noroccidente del país, en las coordenadas 78° 53' 31" O y 0° 01' 23" N, a una altitud de 550 a 1 800 m.s.n.m. Su clima es lluvioso y nublado, con temperaturas entre los 16° a 22°C y una humedad del 95%. La principal actividad de los pobladores del cantón es la ganadería lechera para la elaboración de productos lácteos, con una producción promedio de 1 300 000

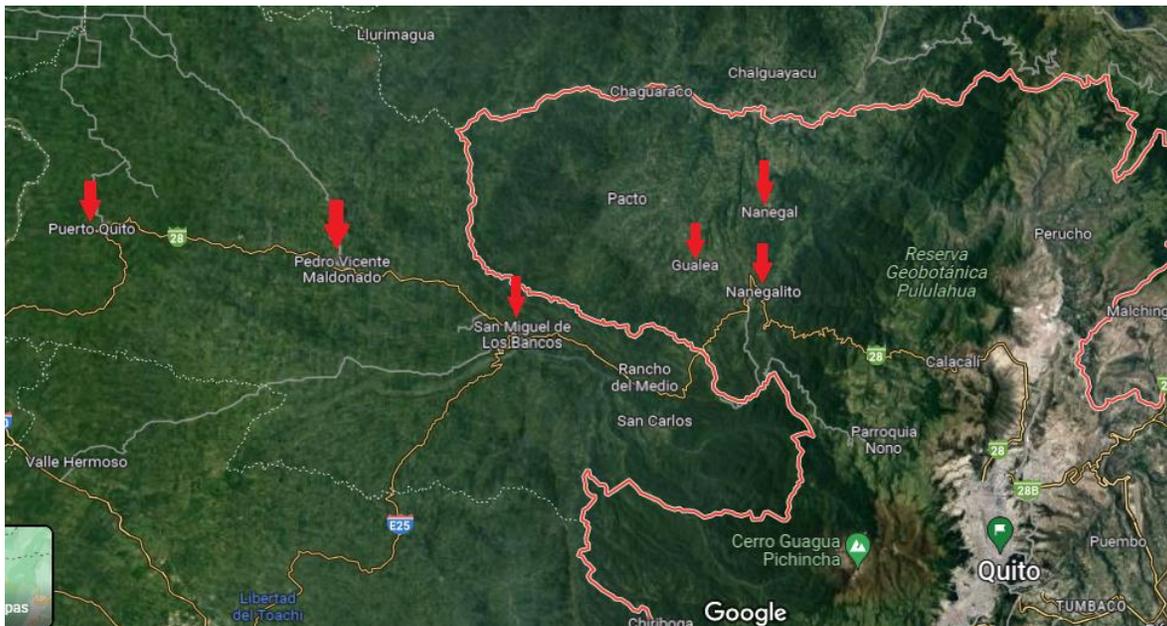
litros mensuales (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de San Miguel de Los Bancos, 2022).

El cantón Puerto Quito se encuentra en la región del bosque húmedo tropical en las coordenadas 79° 15' 50" O y 0° 07' 01" N, a una altitud entre 120 a 160 m.s.n.m. Su clima es lluvioso tropical con temperaturas promedio de 25° a 35°C y precipitaciones de 1 000 a 2 000 mm (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Puerto Quito, 2020). Según (L. Zambrano, 2018), los pobladores de este cantón inicialmente se dedicaban a la agricultura, sin embargo, muchos empezaron con la producción ganadera para obtener mayor ganancia, es así que en la actualidad el 68% del suelo agrícola de la zona, es utilizado para la producción ganadera, especialmente de carne y leche.

El cantón Distrito Metropolitano de Quito se localiza en el callejón interandino, en las coordenadas 78° 30' 35" O y 0° 13' 07" S; a una altitud que varía desde los 444 a 4 500 m.s.n.m. Su clima es muy variado, en el sur las temperaturas son más bajas en comparación con el centro que es caliente y el norte que es templado; es así que la temperatura promedio del cantón se encuentra entre los 10° a 27°C (Guzmán, 2015). Por otro lado, la principal actividad productiva de este cantón es la ganadería con grandes, medianos y pequeños productores, que ocupan el 23% de la superficie total en pastos destinados a la producción de ganado de leche, carne y doble propósito. Las parroquias de Nanegalito, Nanegal y Gualea, que han sido muestreadas, se caracterizan por ser parte del sistema mercantil pecuario representado principalmente por la producción de leche extensiva en la cual predominan razas como la Holstein y la criolla (López, 2014).

Figura 3

Ubicación geográfica de los cantones muestreados en la zona Noroccidental de Pichincha Ecuador



Nota: Imagen recuperada de (Google Earth, 2022)

Determinación del tamaño de la muestra

Se visitaron distintas zonas de interés con el objetivo de socializar y reclutar a varios propietarios que formaron parte de nuestra investigación dando la apertura de sus fincas a los estudiantes de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE – IASA. Por medio de estas visitas iniciales se dio a conocer las ubicaciones exactas y tamaño del hato de las 53 fincas.

Según registros del (Instituto Nacional de Estadística y Censos – INEC, 2021), la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria (ESPAC) indica que en Pichincha existen 279 929 cabezas de ganado bovino, entre machos y hembras. Para el cálculo del tamaño de muestreo se utilizó la siguiente fórmula estadística de tipo cualitativo para una población infinita debido a que, a pesar de conocer la población de bovinos en toda la provincia de Pichincha, no existen datos exactos acerca del número de bovinos presentes en los cantones de estudio

pertenecientes al Noroccidente de Pichincha. En base a esto se aplicó la siguiente fórmula utilizada por (Aguilar, 2015):

$$n = \frac{Z^2 * p(1 - p)}{d^2}$$

Donde:

n= número de animales a muestrear

Z= nivel de confianza

p= porcentaje de prevalencia teórica para bovinos

d= nivel de precisión absoluta

Se conoce que en la Sierra la prevalencia de brucelosis en bovinos, varía entre el 1.97% al 10.62%, por lo cual se ha decidido utilizar como valor promedio $p = 0.062$, junto a un nivel de precisión absoluta 0.02, recomendado por (D. Zambrano & Pérez, 2015). Al reemplazar estos datos se ha obtenido que el número total de animales a muestrear es de 783 bovinos (Tabla 3).

Tabla 3

ZCálculo del tamaño de la muestra aplicada al Noroccidente de la provincia de Pichincha

Constantes	Valores a reemplazar
Z (98%)	2.32
p (6.2% brucelosis)	0,062
d	0,02
n	783 animales

Nota: Resultados obtenidos de la fórmula para determinar el tamaño de la muestra.

Por otro lado, se dividieron las fincas en dos zonas según la altitud a la que se encuentran, la primera zona contiene a fincas que se encuentran a una altitud entre los 100 a 1 017 m.s.n.m., como son las ubicadas en los cantones de Pedro Vicente Maldonado, San Miguel de Los Bancos y Puerto Quito; mientras que en la segunda zona se encuentran las fincas

ubicadas a una altitud mayor a 1 017 m.s.n.m. correspondientes a las parroquias ubicadas en el cantón Distrito Metropolitano de Quito.

Tabla 4

Clasificación de las fincas por zonas, según la altitud

Zona	Tamaño de la UPA	Número de fincas
1	100 a 1 017 m.s.n.m.	33
2	Mayor a 1 017 m.s.n.m.	20
TOTAL		53

Nota: UPA: Unidad de producción agrícola

Para el cálculo de la muestra de animales dentro de cada explotación, se clasificaron las fincas según su tamaño en grandes, medianas y pequeñas (Tabla 5); obteniendo como resultado 16 fincas grandes, 29 fincas medianas y 8 fincas pequeñas.

Tabla 5

Clasificación del tamaño de las fincas según el número de animales totales

Tamaño de la UPA	Número total de animales
<i>Pequeña</i>	1 - 20
<i>Mediana</i>	21 - 70
<i>Grande</i>	>70

Nota: UPA: Unidad de producción agrícola, recuperado de (Paucar et al., 2021).

Una vez clasificadas las fincas, procedimos a calcular la muestra de animales que se tomaron a consideración para realizar las pruebas diagnósticas, para esto nos basamos en una investigación previa, realizada por (Paucar et al., 2021), en la cual indican el porcentaje de muestreo según el número de animales de la finca (Tabla 6).

Tabla 6

Porcentaje de muestreo según el número de animales totales presentes en la finca

Número total de animales	% Muestreo	Número máximo de animales a muestrear
4 – 6	75%	5
7 – 15	50%	8
16 – 30	33%	10
31 – 81	29%	24
81 – 160	25%	40
>160	Máximo 40 animales	40

Nota: Recuperado de (Paucar et al., 2021).

Es así que se muestreo un total de 853 bovinos, mayores a 6 meses de edad, sin distinción de raza ni sexo. En la Tabla 7 se hace referencia al número de animales muestreados según el tamaño de la finca.

Tabla 7

Número de bovinos muestreados según el tamaño de las fincas

Tamaño de la UPA	Número de animales muestreados/UPA
<i>Pequeña</i>	61
<i>Mediana</i>	388
<i>Grande</i>	404
TOTAL	853

Nota: UPA: Unidad de producción agrícola.

Por otro lado, se eligió la finca con mayor número de casos positivos a brucelosis para comprobar la estrategia de la técnica de muestreo por UPA aplicada en el proyecto, por medio del porcentaje de animales infectados según el muestreo y según la población total de dicha

finca. De esta forma se muestrearon 209 bovinos que corresponden a la totalidad de la finca con mayor número de casos de brucelosis; dando un total de 1 062 bovinos muestreados en el presente proyecto (Tabla 8).

Tabla 8

Número total de bovinos muestreados en el Noroccidente de Pichincha

Tamaño de la UPA	Número de animales muestreados/UPA
<i>Pequeña</i>	61
<i>Mediana</i>	388
<i>Grande</i>	404
<i>Finca seleccionada</i>	209
TOTAL	1062

Nota: UPA: Unidad de producción agrícola.

Aplicación de la encuesta epidemiológica

Se realizó una encuesta a los propietarios de las fincas para conocer de manera general el tipo de producción, inventario de los bovinos y otros animales presentes en la explotación, el tipo de alimentación, los tratamientos que se aplican a los animales, el manejo sanitario, el proceso de ordeño y especialmente el conocimiento de la enfermedad, su presencia en bovinos o humanos, tratamientos aplicados y pruebas de diagnóstico realizadas dentro de la explotación. De esta forma se pretende determinar los factores de riesgo más comunes existentes entre los pobladores de dichas parroquias.

Utilización de la aplicación EpiCollect5

La aplicación móvil EpiCollect5 nos permitió almacenar la información geográfica y datos sobre las propiedades que han sido visitadas a lo largo del estudio, permitiendo formar una base de datos para el proyecto “Bru- Tryp”.

Recolección de la información en cada hacienda

Para crear un sustento físico sobre el trabajo de campo, se realizó un registro con los datos principales de los bovinos que han sido muestreados, como su arete/nombre, edad, temperatura, condición corporal, número de partos, número de abortos y vacunas para brucelosis. Además, datos generales sobre la ubicación de la hacienda y su propietario.

Obtención de muestras sanguíneas

Materiales, reactivos y equipos

- Overol
- Botas de caucho
- Guantes
- Registros de muestreo
- Encuestas epidemiológicas
- Tubos vacutainer sin anticoagulante (tapa roja)
- Aguja vacutainer 21G
- Capuchones vacutainer
- Gradillas para tubos
- Etiquetas con código único
- Termómetro
- Frasco para desechos cortopunzantes
- Papel toalla
- Esferos
- Marcador rotulador
- Tabla porta hojas
- Cooler de espuma Flex

Procedimiento para extracción de las muestras de sangre

1. Los bovinos con edades mayores a 6 meses se colocaron en la manga.
2. Se sujetó y limpio la cola del bovino con el papel toalla.
3. Se realizó la punción en la vena coccígea con ayuda de una aguja vacutainer 21G y su capuchón.
4. Se recolectó 10ml de sangre en el tubo sin anticoagulante.
5. Se etiquetó el tubo de la muestra de sangre con el arete/nombre del bovino muestreado.

Trabajo de laboratorio

Las pruebas de diagnóstico se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Sanidad Animal de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicado en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando.

Obtención de suero sanguíneo***Materiales, reactivos y equipos***

- Mandil
- Guantes de nitrilo
- Gradillas
- Centrifuga CENTRICOME modelo REG INDEX
- Tubos de igualación
- Pipetas de Pasteur
- Microtubos de 2ml
- Muestras de sangre en tubos sin anticoagulante
- Etiquetas para microtubos con código único
- Refrigerador

Procedimiento

1. Se igualaron los tubos de sangre sin anticoagulante para colocarlos en la centrifuga durante 5 minutos a 5 000 rpm.
2. Se extrajo el suero con ayuda de una pipeta Pasteur y se trasvasó en microtubos de 2 ml.
3. Se etiquetaron los microtubos según el registro con código único.
4. Se colocaron en gradillas y refrigeraron a 4°C.

Prueba Rosa de Bengala (RBT)**Materiales, reactivos y equipos**

- Suero sanguíneo de bovinos a temperatura ambiente
- Reactivo Bengatest (Rosa de Bengala con antígeno *Brucella* spp.)
- Placas de vidrio de 3x3
- Alcohol
- Palillos de madera
- Lupa
- Gradilla
- Rotuladores
- Cronómetro
- Lámpara
- Lupa
- Micropipetas SUMEDIX modelo 10-100µl
- Agitador vórtex GEMMY modelo VM-300
- Hoja de registro de resultados

Procedimiento para Rosa de Bengala Test

1. Se colocaron las muestras de suero a temperatura ambiente, por lo cual se retiraron de refrigeración 30 minutos antes de su uso.
2. Se colocaron de manera ordenada las muestras de suero en las gradillas para facilitar el proceso.
3. Se dibujó una cuadrícula de 3x3 en el revés de la placa de vidrio.
4. Se registraron los códigos de los sueros que se realizarán la prueba RBT en la hoja de resultados.
5. Se colocó 30µl de suero control positivo a RBT en el cuadrante A1
6. Se colocó 30µl de suero control negativo a RBT en el cuadrante A2
7. Se colocaron 30µl de cada muestra de suero en los siguientes cuadrantes, según el orden del registro.
8. Inmediatamente se colocó una gota del reactivo Bengatest al lado de cada gota de suero.
9. Con ayuda de un palillo se mezcló el reactivo con el suero.
10. Por último, durante 4 minutos se realizaron movimientos circulares a toda la placa de vidrio para homogenizar el reactivo y evitar que se seque.
11. Se interpretaron los resultados, observando la aglutinación formada en los distintos sueros con ayuda de una lámpara y una lupa.

Interpretación de los resultados de Rosa de Bengala Test

Para poder interpretar correctamente los resultados de la prueba de Rosa de Bengala se observó la presencia o ausencia de aglutinación; siendo positivo en caso de presencia de anticuerpos (IgG) en el suero y negativos con la ausencia de los mismos (Ron, 2018).

Tabla 9

Interpretación de los resultados observados en la prueba Rosa de Bengala

Resultado	Interpretación
-	Sin aglutinación ni formación de un borde rosado.
+	Presencia de aglutinación fina y formación de un borde rosado poco visible; se necesita ayuda de una lupa para observar la positividad.
++	Presencia de aglutinación fina y formación de un borde rosado.
+++	Presencia de aglutinación gruesa con un borde rosado definido
++++	Presencia de aglutinación gruesa con un borde rosado bien definido y aclaramiento de la muestra.

Nota: Recuperado de (Ron, 2018).

Prueba de Suero Aglutinación en Tubo de Wright (SAT)

Materiales, reactivos y equipos

- Suero sanguíneo de bovinos a temperatura ambiente
- Placas de micro titulación con fondo cónico
- Canaletas para reactivos
- Vasos de precipitación de 50ml
- Probetas
- Gradillas
- Pipeta multicanal de 10-100 μ l
- Micropipetas SUMEDIX modelo 10-100 μ l
- Incubadora MEMMERT modelo INB400
- Balanza analítica MITTLER TOLEDO modelo PG203-S
- Agitador magnético BOECO modelo MSH-420
- Agitador vórtex GEMMY modelo VM-300
- Espejo de aumento

- Lámpara
- Potenciómetro EON TRADING USA modelo PHT 004TA
- Papel toalla
- Recipientes para cámara húmeda
- Agua destilada
- Solución antigénica SAT
- Cloruro de sodio 0,85%
- Fenol 0,5%
- EDTA 5mM
- Solución T-SAT

Procedimiento para SAT

Para llevar a cabo esta prueba, se dividió en dos fases: la primera conocida como SAT de rutina la cual consiste en realizar 3 diluciones de cada muestra de suero permitiéndonos observar la presencia o ausencia de anticuerpos (IgM). En la segunda fase se realizó el SAT de titulación que consta de 12 diluciones de cada muestra de suero, de esta forma podemos determinar las Unidades Internacionales de Aglutinación (UI/ml) según los porcentajes (25%, 50%, 100%) observados (Ron, 2019a).

SAT- rutina

Las placas para realizar SAT de rutina se encuentran divididas en 4 columnas, cada uno con 3 pocillos para realizar la dilución de las muestras de suero. De esta forma podemos evaluar 30 muestras de suero, acompañadas de un control positivo y un negativo para SAT.

1. Se colocó 168µl de T-SAT en el primer pocillo de la primera fila (A).
2. Luego se colocó 100µl de T-SAT en el segundo y tercer pocillo.
3. A continuación, se adicionó 32µl de suero control positivo en el pocillo 1.

4. Se mezcló con ayuda de una pipeta el contenido del pocillo 1 para homogenizar el T-SAT con el suero, dando como resultado una dilución de 1/12,5.
5. Se succionó con la pipeta 100µl de la mezcla del pocillo 1 y se colocó en el pocillo 2, dando una concentración de 1/25, la cual nuevamente se homogenizo con la pipeta.
6. Se extrajo 100µl del pocillo 2 y se colocó en el pocillo 3, dando una dilución de 1/50.
7. Para igualar el volumen de los 3 pocillos de la primera muestra de suero (control positivo) se extrajo y eliminó en otro recipiente 100µl de la mezcla.
8. Por último, se agregó 100µl del T-Antígeno a cada uno de los pocillos.

Este proceso se repite, en las siguientes filas (B, C, D, E, F, G, H) de la placa y en las siguientes columnas tomando como primer pocillo el 4, 7 y 10; con el suero control negativo y las muestras de suero a evaluar. Al finalizar se debe colocar la placa de rutina en un recipiente para cámara húmeda (toalla de papel humedecida y cubierta con una tapa) y se debe mantener en la incubadora a 17°C por 20 horas.

Tabla 10

Procedimiento para realizar la prueba SAT de rutina

Pasos	Cúpulas		
	1(*)	2(*)	3(*)
<i>Tampón SAT (**)</i>	168	100	100
<i>Suero a investigar</i>	32		
<i>Paso de dilución</i>	↻	↻	↻
<i>Solución de Antígeno (**)</i>	100	100	100
<i>Dilución final</i>	1/12.5	1/25	1/50

Nota: ()*: Diluciones empleadas en la prueba de rutina, recuperado de (Ron, 2019a).

SAT – titulación

A diferencia del SAT de rutina, la placa para titulación permite diluir el suero 12 veces, es decir un suero por fila, dando como resultado 6 sueros evaluados más los sueros de control positivo y negativo para SAT.

En base a los resultados obtenidos con el SAT de rutina, se procedió a titular todas las muestras de suero que indiquen positividad hasta la tercera dilución, siguiendo un procedimiento similar al utilizado en el SAT-rutina.

1. Se colocó 168µl de T-SAT en el primer pocillo de la primera fila (A).
2. Luego se colocó 100µl de T-SAT en los pocillos siguientes (2 al 12).
3. A continuación, se adicionó 32µl de suero control positivo en el pocillo 1.
4. Se mezcló con ayuda de una pipeta el contenido del pocillo 1 para homogenizar el T-SAT con el suero, dando como resultado una dilución de 1/12,5.
5. Se succionó con la pipeta 100µl de la mezcla del pocillo 1 y se colocó en el pocillo 2, dando una concentración de 1/25, la cual nuevamente se homogenizo con la pipeta.
6. Se extrajo 100µl del pocillo 2 y se colocó en el pocillo 3, dando una dilución de 1/50. Este proceso se realizó en los 12 pocillos de la primera fila, obteniendo una concentración final de 1/25.600 en el pocillo 12.
7. Para igualar el volumen del último pocillo de la primera muestra de suero (control positivo) se extrajo y eliminó en otro recipiente 100µl de la mezcla.
8. Por último, se agregó 100µl del T-Antígeno a cada uno de los pocillos.

Este procedimiento se repite para las filas restantes (B, C, D, E, F, G, H) con el control negativo y los sueros a evaluar. Al finalizar se coloca dentro de la cámara húmeda y se deja incubar durante 20 horas a 37°C para poder evidenciar los resultados (Ron, 2019a).

Tabla 11*Procedimiento para realizar la prueba SAT de titulación*

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

Nota: ()*: Diluciones empleadas en la prueba de rutina, *(**)*: en la prueba SAT-EDTA, utilizar el Tampón a base de EDTA, recuperado de (Ron, 2019a).

Interpretación de los resultados de SAT

La lectura de los resultados, tanto para las placas de rutina, como las de titulación, se realizan al finalizar las 20 horas de incubación de las placas, para lo cual se necesita colocar un espejo de aumento en la parte inferior para poder observar la aglutinación en cada pocillo (Ron, 2019a).

Tabla 12

Interpretación de los resultados observado en la prueba de SAT – EDTA

Resultado	Interpretación
-	El antígeno forma en el centro del pocillo un punto compacto, con borde neto y fondo nublado.
25% +	El antígeno forma en el centro del pocillo un punto con borde no tan definido y fondo nublado.
50% +	El antígeno forma una mancha irregular, sin bordes definidos y con fondo poco nublado.
100% +	El antígeno forma en el pocillo una amplia zona de sedimentación con fondo traslúcido.

Nota: Recuperado de (Ron, 2018).

Una vez identificado el porcentaje de aglutinación que posee cada muestra de suero en los distintos pocillos de dilución, se expresaron los resultados en Unidades Internacionales de Aglutinación (UI/ml), como se indica en la siguiente tabla. (Tabla 13).

Tabla 13

Relación entre el grado de traslucidez y Unidades Internacionales por ml

Dilución del suero	Porcentaje de traslucidez de la muestra		
	25%	50%	100%
1/12.5	15 UI	20 UI	25 UI
1/25	30 UI (*)	40 UI	50 UI
1/50	60 UI	80 UI	100 UI
1/100	120 UI	160 UI	200 UI
1/200	240 UI	320 UI	400 UI
1/400	480 UI	640 UI	800 UI
1/800	960 UI	1280 UI	1600 UI
1/1600	1920 UI	2560 UI	3200 UI
1/3200	3840 UI	5120 UI	6400 UI
1/6400	7680 UI	10240 UI	12800 UI
1/12800	15360 UI	20480 UI	25600 UI
1/25600	30720 UI	40960 UI	51200 UI

Nota: UI: Unidades Internacionales de Aglutinación, (*) punto a partir del cual las muestras son consideradas positivas para bovinos (Cut off) =30 UI, recuperado de (Ron, 2019a).

Interpretación global de los resultados de las pruebas serológicas aplicadas

Se han realizado dos tipos de pruebas serológicas para obtener un diagnóstico más certero sobre la positividad de la enfermedad, por lo cual se han combinado los resultados del Rosa de Bengala Test con los resultados de la prueba SAT, mediante el uso de pruebas en paralelo y en serie.

En el caso de las pruebas en paralelo, se consideran negativos a todos los animales que resultan negativos en cualquier prueba serológica aplicada. De esta forma se aumenta la sensibilidad del diagnóstico, pero disminuye la especificidad debido a que se excluyen a aquellos animales que resultaron positivos. Por otro lado, las pruebas en serie consideran positivos a los animales que resultan positivos a las dos pruebas en conjunto. De esta forma disminuye la sensibilidad, pero aumenta la especificidad del diagnóstico debido a que se confrontan las dos pruebas serológicas para confirmar la positividad de la enfermedad (Ávalos, 2000).

Análisis de la información

Se realizó el muestreo de 53 fincas, que corresponden a 853 bovinos, a los cuales se aplicó una estadística descriptiva, distribuyendo el total de animales y positivos, según la zona, el tamaño de UPA, tipo de producción, sexo, edad y tipo de bovino. El análisis se realizó obteniendo media, error estándar y coeficiente de variación; mediante el programa Epi Info. Además, se utilizó la prueba de hipótesis para dos proporciones, para comprobar la estrategia de muestro aplicada en todas las fincas muestreadas al Noroccidente de Pichincha en comparación con la finca F14 que presentó mayor número de animales positivos a las pruebas serológicas aplicadas. Para esto, se realizaron hipótesis ($H_0 = \widehat{p}_1 = \widehat{p}_2$ y $H_1 = \widehat{p}_1 \neq \widehat{p}_2$) en base a la Prueba bilateral en la cual se rechaza H_0 si $|Z| > Z_{\alpha/2}$ y se aplicó la siguiente fórmula:

$$Z = \frac{\widehat{p}_1 - \widehat{p}_2}{\sqrt{\widehat{p}\widehat{q} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Donde:

$$\hat{p} = \frac{x_1+x_2}{n_1+n_2}; \hat{q} = 1 - \hat{p}$$

$$\widehat{p1} = \text{prevalencia del muestreo realizado en la finca F14} \rightarrow \widehat{p1} = \frac{x_1}{n_1}$$

$$\widehat{p2} = \text{prevalencia de toda la poblacion de bovinos de la finca F14} \rightarrow \widehat{p2} = \frac{x_2}{n_2}$$

Por último, se realizó la comparación de distintas variables con el objetivo de determinar los factores de riesgo asociados a la presencia de la enfermedad; por medio de Riesgo Relativo (RR), aplicado en variables que tienen diferencias significativas dentro de las fincas.

Determinación de la prevalencia de la enfermedad

Para la determinación de la prevalencia se tomó en cuenta el número total de animales considerados positivos para las dos pruebas serológicas, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de animales muestreados positivos}}{\text{Número total de animales muestreados}} * 100$$

Además, se calculó la prevalencia según el sexo, edad y tipo de bovino para identificar que factor influye más en el contagio de la enfermedad y por otro lado se determinó la prevalencia a nivel de finca y dentro de las distintas zonas clasificadas según la altitud.

Prevalencia por sexo

Se clasificaron a los animales según el sexo, macho o hembra, y se identificaron aquellos positivos para las dos pruebas serológicas, aplicando las siguientes fórmulas:

$$\text{Prevalencia en hembras} = \frac{\text{Número de hembras muestreadas positivas}}{\text{Número total de hembras muestreadas}} * 100$$

$$\text{Prevalencia en machos} = \frac{\text{Número de machos muestreados positivos}}{\text{Número total de machos muestreados}} * 100$$

Prevalencia por edad

Para calcular la prevalencia según la edad, se ha clasificado a los animales en cuatro categorías según su edad en meses, como se indica en la Tabla 14. Una vez clasificados todos los animales, se procedió a aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia edad} = \frac{\text{Número de animales positivos en la categoría } X}{\text{Número total de animales muestreados en la categoría } X} * 100$$

Tabla 14

Clasificación por categoría de los bovinos

Categoría	Edad (meses)
1	0 – 9
2	10 – 18
3	19 – 36
4	>36 meses

Nota: (Con. Pers. Chávez M; 2022).

Prevalencia por tipo de bovino

Se identificaron y clasificaron las distintas razas de los animales muestreados, según el tipo de bovino en *Bos indicus* y *Bos taurus* y animales mestizos *Bos indicus x Bos taurus* y se aplicó la fórmula:

$$\text{Prevalencia tipo de bovino} = \frac{\text{Número de animales del mismo tipo positivos}}{\text{Número total de animales del mismo tipo}} * 100$$

Prevalencia a nivel de finca

Dentro de las fincas muestreadas, se identificaron los animales positivos a brucelosis para determinar la prevalencia del hato, considerando como positiva a la finca si es que esta presenta al menos un animal positivo a cualquier de las pruebas serológicas aplicadas

$$\text{Prevalencia en la finca} = \frac{\text{Número de fincas positivas}}{\text{Número total de fincas muestreadas}} * 100$$

Prevalencia por zona según la altitud de las fincas

Dentro de la clasificación que se realizó según la altitud a la que se encuentran las fincas (Tabla 3), se identificaron los animales positivos a brucelosis para determinar la prevalencia de la zona.

$$\text{Prevalencia en la zona } X = \frac{\text{Número de animales positivos en la zona } X}{\text{Número total de animales muestreados en la zona } X} * 100$$

Determinación de los factores de riesgo

Con el objetivo de determinar los factores de riesgo que ocasionan la presencia de la enfermedad en las distintas fincas muestreadas, se realizó un tipo de estudio de cohorte conocido como Riesgo Relativo (RR), debido a que la prevalencia a nivel de fincas es del 64.15%.

Capítulo IV

Resultados y discusión

Estadística descriptiva de las muestras tomadas en las fincas del Noroccidente de Pichincha

Distribución de animales muestreados y positivos por zona, tamaño de UPA y sexo.

Para el estudio epidemiológico se analizaron 853 muestras de bovinos pertenecientes a cuatro cantones del Noroccidente de la provincia de Pichincha, a los cuales se dividieron en dos zonas previamente mencionadas (Tabla 4), dentro de los cuales se visitaron 53 fincas clasificadas según el tamaño de la UPA (Tabla 5). De esta forma, se observó que en la zona 1 existieron 3 fincas pequeñas, representando al 2.7% (23/853) de animales muestreados; 18 fincas medianas, representando al 28.60% (244/853) de animales muestreados; y 12 fincas grandes, representando al 35.05% (299/853) de animales muestreados; dando un total de 33 fincas con 566 bovinos muestreados, que equivalen al 66.35% del total de animales en el estudio. Además, se observó la presencia de 61 animales infectados dentro de esta zona, equivalente al 69.32% de bovinos infectados dentro del estudio; identificando que en fincas pequeñas existió 1 hembra infectada (1/61), en fincas medianas existieron 26 hembras y 3 machos infectados (29/61), mientras que en fincas grandes se observó la presencia de 27 hembras y 4 macho con anticuerpos contra *Brucella* spp. (31/61).

Por otro lado, en la zona 2 existieron 5 fincas pequeñas, representando al 4.45% (38/853) de animales muestreados; 11 fincas medianas, representando al 16.88% (144/853) de animales muestreados; y 4 fincas grandes, representando al 12.31% (105/853) de animales muestreados; dando un total de 20 fincas con 287 bovinos muestreados, que equivalen al 33.65% del total de animales del estudio. También se determinó que dentro de la zona 2 existieron 27 animales con anticuerpos contra *Brucella* spp., equivalente al 30.68% de bovinos infectados dentro del estudio; identificando que en fincas pequeñas existieron 2 hembras

infectadas (2/27), en fincas medianas 15 hembras y 3 machos infectados (18/27) y en fincas grandes se observaron 7 hembras infectadas (7/27).

Tabla 15

Distribución del número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona, tamaño de las UPA's y sexo

Parámetro	Número de fincas	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a pruebas diagnósticas	
<i>Zona 1</i>	33	566	61	
<i>Fincas pequeñas</i>	3	23	Hembras:	1
			Machos:	0
<i>Fincas medianas</i>	18	244	Hembras:	26
			Machos:	3
<i>Fincas grandes</i>	12	299	Hembras:	27
			Machos:	4
<i>Zona 2</i>	20	287	27	
<i>Pequeña</i>	5	38	Hembras:	2
			Machos:	0
<i>Mediana</i>	11	144	Hembras:	15
			Machos:	3
<i>Grande</i>	4	105	Hembras:	7
			Machos:	0
TOTAL	53	853	88	

Se puede observar que se muestreó mayor cantidad de fincas y animales en la zona 1, como se mencionó anteriormente esta zona está conformada por las localidades de Pedro Vicente Maldonado, San Miguel de Los Bancos y Puerto Quito, lugares que se encuentran por debajo de los 1 017 m.s.n.m.; en donde la topografía no cuenta con fuertes pendientes como en el caso de la zona 2, razón por la cual, las fincas poseen mayor extensión de áreas planas, siendo representativa la cantidad de fincas grandes y medianas existentes. Por otro lado, la zona 2 al encontrarse más cerca de la Cordillera de los Andes, presenta menos cantidad de

fincas de gran tamaño, ya que están limitadas por la topografía. Esto da como resultado que, en zonas más cercanas al nivel del mar encontremos mayor cantidad de animales, representando al 66.35% de bovinos muestreados y 69.32% de bovinos positivos a las pruebas serológicas aplicadas.

Distribución de animales muestreados y positivos por zona y tipo de producción

En la zona 1 se muestrearon 566 bovinos, 63 machos y 503 hembras, de los cuales el 74.03% (419/566) pertenecientes a fincas de producción lechera, en la cual 27 animales presentaron anticuerpos contra *Brucella* spp., mientras que el 15.54% (88/566) estuvieron en fincas dedicadas a la producción de doble propósito, donde 22 bovinos presentaron anticuerpo, y solo el 10.43% (59/566) estuvieron en fincas dedicadas a la producción de carne, con 12 animales positivos. Por lo tanto, es importante mencionar que, dentro de la producción lechera en esta zona, hay un total de 15 fincas que se consideran positivas a brucelosis (15/26); en la producción cárnica hay 1 finca positiva (1/2) y en la de doble propósito hay 4 fincas positivas (4/5).

Por otro lado, en la zona 2 se muestrearon 287 bovinos, 28 machos y 259 hembras, de los cuales el 93.73% (269/287) se encontraron en fincas dedicadas a la producción lechera, en donde 25 animales presentaron anticuerpos; mientras que el 3.48% (10/287) estuvieron en fincas dedicadas a la producción cárnica, donde se observó la presencia de 2 animales positivos y apenas el 2.79% estuvo en fincas de doble propósito, en donde no se identificaron animales positivos a las pruebas diagnósticas. También es importante mencionar que, dentro de la producción lechera en esta zona, existieron un total de 13 fincas que se consideraron positivas a brucelosis (13/18) y en la producción cárnica se observó únicamente 1 finca positiva.

Tabla 16

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona y tipo de producción

Zona	Tipo de producción											
	Lechera				Cárnica				Doble propósito			
	Número de fincas		Número de animales		Número de fincas		Número de animales		Número de fincas		Número de animales	
	n	+	n	+	n	+	n	+	n	+	n	+
1	26	15	419	27	2	1	59	12	5	4	88	22
2	18	13	269	25	1	1	10	2	1	0	8	0
TOTAL	44	28	688	52	3	2	69	14	6	4	96	22

Nota: n: número finca/bovinos; +: número de finca/bovinos positivos a pruebas serológicas.

Gracias a las encuestas realizadas por (Instituto Nacional de Estadística y Censos – INEC, 2021) se conoce que en la Sierra las ganaderías están enfocadas a la producción lechera, con el 51.91% a nivel nacional. El estudio reveló que en el Noroccidente de Pichincha el 80.66% (688/853) de animales muestreados pertenecieron a fincas de producción de leche; el 11.25% a fincas enfocadas al doble propósito, y únicamente el 8.09% de fincas enfocadas a la producción cárnica. Las fincas con doble propósito nacen con el objetivo de obtener mayor cantidad de ganancias.

Distribución de animales muestreados y positivos por UPA y sexo

De las 53 fincas muestreadas se obtuvo que 34 fincas tuvieron al menos 1 animal positivo a las pruebas serológicas. La finca que aportó con mayor número de animales fue la finca F14, ubicada en la zona 1, con 41 animales, que representó el 4.81% de las muestras. Por otro lado, las fincas con más de 30 hembras muestreadas fueron la F1 (31/762), F8 (35/762), F14 (34/762), F16 (31/762) y F38 (33/762); mientras que la finca con mayor número de machos fue la F10 con 8 machos, que representó el 8.79% (8/91) (Tabla 16). Además, el 88.63% de bovinos que resultaron positivos en al menos una prueba serológica fueron hembras (78/88) y tan solo el 11.36% (10/88) fueron machos (Anexo 1).

Distribución de animales muestreados y positivos por edad y sexo

Dentro del estudio epidemiológico se realizó el muestreo de 762 hembras que corresponden al 89.33% de animales muestreados, dentro de las cuales el 51.97% (396/762) se encontraron a una edad superior a los 36 meses, seguido del 17.59% (134/762) entre 19 a 36 meses de edad, en tanto que el 7.87% (60/762) se encuentra entre los 10 a 18 meses de edad y el 9.84% (75/762) entre los 0 a 9 meses de edad; Es importante indicar del 12.73% de hembras no fue posible obtener la información fiable correspondiente a la edad (Tabla 17). Por otro lado, el 10.24%, equivalente a 78 hembras, presentaron resultados positivos a por lo menos una de las pruebas diagnósticas.

De forma similar en el muestreo realizado a machos, el cual representó al 10.67% de las muestras totales dentro de la investigación, en donde el 45.05% (41/91) se encontró entre los 0 a 9 meses de edad; seguido del 25.27% (23/91) entre los 19 a 36 meses de edad; sin embargo, un 5.49% de machos, corresponden a aquellos de los cuales no fue posible constatar su edad al momento del muestreo. Por último, cabe mencionar que el 10.99% (10/91) de machos presentaron resultados positivos a por lo menos una de las pruebas diagnósticas.

Tabla 17

Número de hembras y machos positivos a pruebas diagnósticas, según la edad

Edad (meses)	Número de animales muestreados				Número de animales positivos a pruebas diagnósticas	
	Machos		Hembras		Machos	Hembras
	n	%	n	%		
0 a 9	41	45.05	75	9.84	5	8
10 a 18	6	6.59	60	7.87	1	6
19 a 36	23	25.27	134	17.59	1	10
>36 meses	16	17.58	396	51.97	2	41
SD	5	5.49	97	12.73	1	13
TOTAL	91	100	762	100	10	78

Nota: n: número de animales; %: porcentaje equivalente; SD: sin datos acerca de la edad del animal.

La mayor cantidad de animales muestreados se encuentran sobre los 19 meses de edad, ya que como recomienda en el Manual de Procedimientos para la Atención y Control de Brucelosis bovina en el Ecuador, publicado por (AGROCALIDAD, 2016), cuando se sospecha o se requiere hacer un control a una finca, se debe realizar un muestreo total de los bovinos que tengan más de 12 meses de edad, si han sido vacunados con la cepa RB51, o mayores a 18 meses de edad si han sido vacunados con la cepa 19. Por esta razón se ha recomendado el muestreo de aquellos bovinos que ya han iniciado su etapa reproductiva, con el objetivo de disminuir posibles infecciones cruzadas entre las pruebas diagnósticas y la presencia de anticuerpos generados por la vacunación.

Distribución de animales muestreados y positivos por zona y tipo de bovino

Dentro de las distintas zonas que fueron seleccionadas para la investigación, se encontró que el 66.58% fueron bovinos del tipo *Bos taurus*, el 8.21% pertenecieron a *Bos indicus* y el 24.27% fueron animales mestizos (*Bos taurus* x *Bos indicus*) con alta adaptación a la zona del Noroccidente de Pichincha. Además, en la zona 1, el tipo de bovino que presentó mayor cantidad de animales positivos en las pruebas serológicas, fue la *Bos taurus*, con el 54.1% de animales positivos en esta zona; lo mismo ocurrió en la zona 2, ya que *Bos taurus* tiene una prevalencia de 40.98%

Tabla 18

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según la zona y tipo de bovino

Tipo de bovino	Muestras		Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas
	n	%	
<i>Zona 1</i>	566	66.35	61
<i>Bos taurus</i>	305	66.58	33
<i>Bos indicus</i>	61	8.21	8
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i>	192	24.27	16
<i>SD</i>	8	0.94	4

Tipo de bovino	Muestras		Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas
	n	%	
<i>Zona 2</i>	287	33.65	27
<i>Bos taurus</i>	263	66.58	25
<i>Bos indicus</i>	9	8.21	1
<i>Bos taurus x Bos indicus</i>	15	24.27	1
SD	0	0.94	0
TOTAL	853	100	88

Nota: n: número de animales; %: porcentaje equivalente; SD: sin datos acerca de la raza del animal.

El tipo de bovino *Bos taurus* se encuentra distribuida a nivel de la Sierra debido a que son especializados en producción de leche y también son usadas para doble propósito; dentro de las razas que se lograron identificar en el estudio fueron: Holstein, Jersey, Charolais y Normando. Como se ha mencionado con anterioridad, en el estudio se muestreó 688 bovinos dedicados a la producción lechera, por esta razón este tipo de bovinos son los más predominaron en la investigación. En el caso del tipo *Bos indicus*, la principal raza observada fue la Gyr, con la cual se obtenían animales mestizos entre estos dos tipos.

Estadística descriptiva de la finca con mayor número de bovinos positivos a brucelosis (F14).

Distribución de animales muestreados y positivos por sexo y edad

Inicialmente, en la finca 14 se muestrearon 7 machos y 34 hembras, dando un total de 41 animales muestreados que representaron el 19.62% de la población total de bovinos presentes en toda la explotación (41/209). Además, mediante el muestreo se identificó que 9 hembras y 3 machos fueron positivos a las pruebas diagnósticas, es decir el 21.95% (9/41) y 7.31% (3/41) respectivamente (Tabla 19). En base a estos resultados, se tomó la decisión de realizar las pruebas serológicas a toda la población para verificar si el método de muestreo es realmente efectivo; con lo que se determinó que 65 hembras y 14 machos fueron positivos a las

pruebas diagnósticas, es decir el 31.10% de hembras y 6.7% de machos presentaron anticuerpos contra *Brucella* spp. (Tabla 20).

Para determinar si el muestreo es efectivo se aplicó la fórmula de la prueba de hipótesis para dos proporciones, con lo que se obtuvo un valor de $Z = |-0.9284|$, y se realizaron dos nuevas hipótesis en base a la prueba bilateral, considerando un nivel de significancia del 0.05, con lo cual se obtuvo que $Z_{\alpha/2} = 1.96$.

- H0: La prevalencia del muestreo realizado en la finca F14 es igual a la prevalencia obtenida en toda la población de bovinos presentes en la finca F14.
- H1: La prevalencia del muestreo realizado en la finca F14 no es igual a la prevalencia obtenida en toda la población de bovinos presentes en la finca F14.

De esta forma se obtuvo que: $|-0.9284| > 1.96$, por lo tanto, al no cumplirse con la regla de decisión, no se rechazó H0; es decir que la estrategia de muestreo aplicada en nuestro estudio es realmente efectiva ya que la prevalencia real (muestreo total de los efectivos) de la finca F14 respecto a la prevalencia aparente (basada en el muestreo de una parte de la población), de la misma finca, son significativamente iguales.

Tabla 19

Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas con muestreo de un grupo de animales, según el sexo y edad

Edad	Número de animales muestreados		Hembras		Machos	
	n	+	n	+	n	+
0 a 9	10	2	4	0	6	2
10 a 18	11	1	11	1	0	0
19 a 36	10	4	10	4	0	0
> 36 meses	10	5	9	4	1	1
TOTAL	41	12	34	9	7	3

Nota: n: número de animales; +: animales positivos a pruebas serológicas.

Tabla 20

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas de la totalidad de animales en la finca 14, según el sexo y edad

Edad	Número de animales muestreados		Hembras		Machos	
	n	+	n	+	n	+
0 a 9	10	7	5	3	5	4
10 a 18	59	3	25	1	34	2
19 a 36	81	27	58	20	23	7
> 36 meses	59	42	58	41	1	1
TOTAL	209	79	146	65	63	14

Nota: n: número de animales; +: animales positivos a pruebas serológicas

Prevalencia de brucelosis bovina

Prevalencia general de brucelosis bovina

Para determinar la prevalencia de brucelosis bovina en el Noroccidente de Pichincha se analizaron 853 muestras de suero sanguíneo de bovinos, mediante dos pruebas serológicas: Rosa de Bengala y Suero Aglutinación Lenta en tubo de Wright, de las cuales se logró identificar que el 0.47% de los bovinos muestreados resultaron positivos únicamente a Rosa de Bengala, el 6.92% de animales resultaron positivos únicamente a la prueba SAT, mientras que el 2.93% resultaron positivos a las dos pruebas serológicas aplicadas.

La distribución de los resultados podría estar relacionada al momento de la infección en la cual se encontraban los animales muestreados. Es decir, los bovinos que resultan positivos únicamente a SAT, son aquellos en los que la infección está en grado agudo o han sido recientemente infectados, con lo cual se logra detectar únicamente anticuerpos tipo IgM. Por otro lado, aquellos animales que son positivos solo a la prueba de Rosa de Bengala, son los

que están en fase crónica de la infección, es decir ya tienen la enfermedad persistente y presentan anticuerpos tipo IgG (Sutherland, 1984). Por último, aquellos que resultan positivos a los dos tipos de diagnósticos pueden encontrarse en fase transitoria, es decir de agua a crónica, como se mostró en la Figura 2 sobre la dinámica de respuesta inmune humoral que presentan los bovinos al momento de infectarse con *Brucella spp.*

Por lo tanto, se ha considerado que todo bovino que resulte positivo a cualquiera de las dos pruebas serológicas aplicadas, posee anticuerpos contra brucelosis, dando como resultado una prevalencia del 10.32% en el Noroccidente de Pichincha. Además, se determinó la prevalencia a nivel de fincas, para lo cual se identificaron que existen 34 fincas en las cuales al menos un animal resultó positivo a cualquiera de las dos pruebas serológicas utilizadas (Anexo 1); de esta forma, la prevalencia a nivel de fincas se encontró que fue del 64.15%.

Tabla 21

Análisis general de brucelosis según la prueba serológica aplicada

Rosa de Bengala	SAT	n	%
-	-	765	89.68
+	-	4	0.47
-	+	59	6.92
+	+	25	2.93
	TOTAL	853	100

Nota: SAT-T: prueba de Suero Aglutinación Lenta en tubo de Wright fase de titulación; n: número de animales; %: porcentaje equivalente; (-): animales que resultaron negativo a la prueba serológica; (+): animales que resultaron positivos a la prueba serológica.

Prevalencia de brucelosis por zona altitudinal

Se analizó la prevalencia de los bovinos según la zona altitudinal a la que se encontraban, es decir, en la zona 1 aquellos que están entre los 100 a 1 017 m.s.n.m. y en la zona 2 aquellos que se encontraban sobre los 1 017 m.s.n.m. En la zona 1 se determinó una prevalencia de 10.78% (61/566), mientras que en la zona 2 fue del 9.41% (27/287). A su vez, es importante mencionar que la zona altitudinal no es un factor de riesgo para la presentación de animales con resultados positivos a las pruebas serológicas ($p=0.534$).

Tabla 22

Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según la zona altitudinal

Zona altitudinal	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a brucelosis	Prevalencia
<i>Zona 1</i>	566	61	10.78%
<i>Zona 2</i>	287	27	9.41%
TOTAL	853	88	

La falta de relación entre la zona altitudinal con la presencia de animales positivos a las pruebas diagnósticas, puede ser debido a las cortas distancias que se recorren entre fincas, como se observa en la Figura 4, en donde la distribución geográfica de las fincas es muy cercana entre sí. Por lo cual (Salguero, 2014) indica que, a partir del muestreo de aproximadamente 2 733 hatos distribuidos a lo largo de la Región Sierra y Amazonía, se logró determinar la prevalencia verdadera de estas regiones.

Prevalencia de brucelosis por tamaño de UPA

Las fincas fueron inicialmente clasificadas según el número de animales en grandes, medianas o pequeñas, con lo cual se obtuvo que la prevalencia en fincas pequeñas fue del 4.92%, mientras que en fincas medianas fue del 12.11% y en grandes del 9.40% (Tabla 23).

Tabla 23

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tamaño de la UPA

Tamaño de la UPA	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a brucelosis	Prevalencia
<i>Pequeña</i>	61	3	4.92%
<i>Mediana</i>	388	47	12.11%
<i>Grande</i>	404	38	9.41%
TOTAL	853	88	

Nota: UPA: Unidad de producción agrícola

Los resultados obtenidos no permitieron evidenciar que el tamaño de las fincas sean un factor de riesgo para la presentación de animales positivos a las pruebas serológicas ($p=0.1622$), pero debemos considerar que se encuentran en la misma zona geográfica, la cual se demostró que tampoco es un factor de riesgo. Caso contrario sucede en otros estudios, como el realizado por (Paucar et al., 2021), en el cual se menciona que el tamaño de la granja si es un factor de riesgo para la presentación de anticuerpos contra *Brucella* spp., esta falta de coincidencia puede deberse a que la zona de muestreo abarca un área geográfica más amplia, Región Costa, Sierra y Amazonía, incluyendo distintas zonas las cuales influyen significativamente; mientras que el estudio realizado actualmente presentó distancias cortas entre las fincas, ocasionando que la seroprevalencia aumente significativamente en todas las fincas.

Prevalencia de brucelosis por tipo de producción

Según las encuestas realizadas a los propietarios y trabajadores de las fincas, se determinó el objetivo de producción, diferenciando en producción de leche, de carne o doble propósito, con lo cual se ha obtenido que aquellas fincas que se dedican a la producción lechera presentaron una prevalencia del 7.56% (52/688), mientras que las fincas dedicadas a la producción cárnica y de doble propósito presentaron prevalencias de 20.29% (14/69) y 22.92% (22/96); podrían deberse a que el número de fincas muestreadas tanto para cárnicas o como

doble propósito fue de apenas el 5.66% (3/53) y 11.32% (6/53), respectivamente, en comparación con el total de muestras. Sin embargo, los resultados obtenidos no permitieron evidenciar que el tipo de producción sea un factor de riesgo para la presentación de animales positivos a las pruebas serológicas ($p=0.985$).

Tabla 24

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tipo de producción

Tipo de producción	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas	Prevalencia
<i>Lechera</i>	688	52	7.56%
<i>Cárnica</i>	69	14	20.29%
<i>Doble propósito</i>	96	22	22.92%
TOTAL	853	88	

Prevalencia de brucelosis por tipo de bovino

Junto con la prevalencia según el tipo de producción se determinó la prevalencia en función de los tipos de bovinos presentes en las distintas fincas muestreadas, clasificándolas de manera general en *Bos taurus*, *Bos indicus* y mestizas (*Bos taurus* x *Bos indicus*), observándose la existencia de 8 animales, en los cuales no fue posible el registro del tipo de bovino al que pertenecían. Explicado esto, se determinó que la prevalencia en *Bos taurus* fue del 10.21%, en *Bos indicus* fue del 12.86% y *Bos taurus* x *Bos indicus* del 8.21%. Un dato importante que los resultados obtenidos no permitieron evidenciar, fue que el tipo de bovino es un factor de riesgo para la presentación de animales positivos a las pruebas serológicas ($p=0.0017$).

Tabla 25

Número de animales positivos a pruebas diagnósticas, según el tipo de bovino

Tipo de bovino	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas	Prevalencia
<i>Bos taurus</i>	568	58	10.21%
<i>Bos indicus</i>	70	9	12.86%
<i>Bos Taurus x Bos indicus</i>	207	17	8.21%
<i>SD</i>	8	4	50%
TOTAL	853	88	

Nota: SD: sin datos acerca de la raza del animal

En la Tabla 25 se observa que existe mayor prevalencia en los bovinos tipo *Bos indicus*, este tipo de bovinos se caracterizan por tener mayor capacidad de producción cárnica o de doble propósito, debido a que tienen mayor capacidad de acumular grasa y carne; esto nos permite asociar el hecho de que la prevalencia en fincas dedicadas a la producción cárnica y de doble propósito son las que presentaron mayor prevalencia en el estudio (Tabla 24).

(Meza et al., 2010), indicó que los sistemas de crianza para este tipo de bovinos son en forma extensiva, al libre pastoreo, mientras que el método de empadre más utilizado es por monta natural; por esta razón explica que no existe control sanitario debido a la libertad de los animales y las distintas posibilidades de contagiarse con fincas vecinas. De igual forma en el estudio realizado por (Salguero, 2014), nos indica que la prevalencia aumenta significativamente debido a la alta movilidad de las razas productoras de carne, con lo cual aumenta en un 22% más las probabilidades de contraer brucelosis en comparación con las razas productoras de leche. Por otro lado, (Jaramillo & Yépez, 2013), indica que los cruzamientos entre *Bos taurus* con *Bos indicus* aumenta la movilidad de los animales entre regiones, incrementando la diseminación de la enfermedad.

En el Ecuador la mayoría de fincas ubicadas al Noroccidente de Pichincha se dedican a la producción lechera, pero poseen animales tipo *Bos indicus* con el objetivo de realizar cruzamientos entre *Bos taurus* x *Bos indicus* y de esta forma lograr mayor adaptación al medio cálido existente en la zona de estudio (Hernández, 1991).

Prevalencia de brucelosis por sexo

En el presente estudio se analizaron 762 hembras bovinas (89.33%), de las cuales 78 resultaron positivas ante las pruebas serológicas contra brucelosis, dando una prevalencia del 10.24%; mientras que, en el caso de machos bovinos, se muestreó a penas 91 animales (10.67%), de los cuales 10 resultaron positivos a las pruebas serológicas aplicadas, dando una prevalencia del 10.99% (Tabla 26). Los resultados obtenidos nos demostraron que el sexo del animal no fue un factor de riesgo para la presentación de animales positivos a las pruebas serológicas ($p=0.823$).

Tabla 26

Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según el sexo

Sexo	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas	Prevalencia
<i>Hembras</i>	762	78	10.24%
<i>Machos</i>	91	10	10.99%
TOTAL	853	88	

Como se observa en la Tabla 26, los machos presentan mayor porcentaje de prevalencia en nuestro estudio, sin embargo, un estudio realizado por (Motta et al., 2018), indica que existe mayor prevalencia en hembras, debido a la cercanía que tienen con los materiales infecciosos, como son secreciones vaginales o tejidos y líquidos fetales provenientes de otras vacas que abortaron y son positivas a la enfermedad. Los resultados permitieron inferir que, en el estudio, al haber muestreado a menos machos (91/853) en

comparación con las hembras, se podría haber incurrido en un sesgo involuntario de muestreo, lo cual pudo influenciar en los resultados obtenidos.

Prevalencia de brucelosis por edad

Los animales muestreados fueron distribuidos en cuatro categorías distintas, comprendidas entre los 0-9, 10-18, 19-36 y mayor a 36 meses de edad; tomando en cuenta que en un 11.95% (102/853) de bovinos no se logró obtener la información correspondiente a su edad. De esta forma, se obtuvo que la prevalencia en bovinos que se encontraba entre los 0-9 meses fue del 11.21%, los bovinos que tenían entre 10-18 meses presentaron una prevalencia del 10.61%, por otro lado, aquellos que se encontraban entre los 19-36 meses presentaron una prevalencia del 7.01% y por último los bovinos mayores a 36 meses de edad tuvieron una prevalencia del 10.44%. A su vez, Los resultados obtenidos nos demostraron que la edad del animal no fue un factor de riesgo para la presentación de animales positivos a las pruebas serológicas ($p=0.599$).

Tabla 27

Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas, según la edad

Edad (meses)	Número de animales muestreados	Número de animales positivos a las pruebas diagnósticas	Prevalencia
0 – 9	116	13	11.21%
10 – 18	66	7	10.61%
19 – 36	157	11	7.01%
> 36 meses	412	43	10.44%
SD	102	14	13.72%
TOTAL	853	88	

Nota: SD: sin datos acerca de la edad del animal

(Acha P, 2001), menciona que las infecciones por *Brucella* pueden suceder a cualquier edad, sin embargo, es más común en animales que se encuentran en una etapa sexualmente madura. Como se indica en la Tabla 27, los bovinos que se encontraron entre los 0 a 9 meses de edad presentaron mayor prevalencia de la enfermedad. Un estudio realizado (Campos et al., 2017) en el cual determinan la longevidad de anticuerpos contra *Brucella abortus* en inmunidad pasiva, se indica que los anticuerpos calostrales se encuentran presentes hasta los 106 - 114 días de edad, recomendando que el momento propicio para realizar pruebas de diagnóstico es a partir de los 105 días de vida. Otra razón que puede indicar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* a temprana edad es la vacunación con cepa 19, por lo cual se recomienda vacunar luego de los 153 días de vida, en los cuales los anticuerpos provenientes de la madre han dejado de circular por el ternero, evitando la interferencia entre los anticuerpos provenientes del calostro y la vacuna.

(Paredes, 2021), menciona en su estudio que los bovinos adultos que se encuentran en una etapa de madurez sexual presentan mayor probabilidad de contagiarse con brucelosis, ya que se encuentran expuestos al material contaminado con *Brucella* spp.

Factores de riesgo para el contagio de brucelosis bovina

Para determinar los factores de riesgo que están asociados a la presencia de brucelosis en bovinos, se realizaron encuestas que permiten tener una mejor perspectiva de la situación de cada finca, sin embargo, la veracidad de la información dependía de la persona encuestada, ya que se evidenciaron casos en los cuales los trabajadores o propietarios desconocían datos indispensables para determinar los riesgos asociados con brucelosis, esto debido al desconocimiento de la enfermedad, lo cual sucedía en aproximadamente el 39.62% de los encuestados (21/53).

Se considera que un factor no tiene relación con la presencia de brucelosis cuando el valor de Riesgo Relativo (RR) está próximo al valor de 1; por otro lado, si el valor de $RR < 1$, se considera que la relación entre el factor de riesgo y la enfermedad es una asociación

protectora, siendo poco probable que influya sobre la presencia de brucelosis, pero si el valor de $RR > 1$, indica que el factor está estrechamente relacionado con la presencia de brucelosis (Ramírez, 2012).

Los factores de riesgo que se analizaron en las fincas bovinas fueron: conocimiento de la enfermedad y de las vías de transmisión, presencia de otras especies animales, tipo de producción, servicio veterinario, vacunación contra brucelosis, tipo de vacuna, presencia de abortos, manejo de material infeccioso (abortos), separación de animales enfermos, movilización de los animales fuera de la finca y procedencia de animales de reemplazo (Tabla 28).

Tabla 28

Factores de riesgo asociados a la positividad de brucelosis bovina en fincas ganaderas

Factor de riesgo	Categoría	Fincas		Riesgo Relativo		Riesgo Atribuible
		muestreadas		Valor	I.C. 95%	
		<i>n</i>	+			
<i>Conocimiento de la enfermedad</i>	<i>Si</i>	32	22	1.371*	0.67 – 2.79	11.60
	<i>No</i>	21	12			
<i>Conocimiento de vías de transmisión</i>	<i>Si</i>	27	17	0.934	0.45 – 1.92	-2.421
	<i>No</i>	26	17			
<i>Presencia de otras especies animales</i>	<i>Si</i>	48	30	0.533	0.08 – 3.19	-17.50
	<i>No</i>	5	4			
<i>Tipo de producción</i>	<i>Lechera</i>	44	28			
	<i>Cárnica</i>	3	2	-	-	0.985
	<i>Doble propósito</i>	6	4			
<i>Servicio veterinario</i>	<i>Si</i>	20	15	1.697*	0.72 – 3.99	17.424
	<i>No</i>	33	19			

Factor de riesgo	Categoría	Fincas		Riesgo Relativo		Riesgo
		muestreadas				Atribuible
		<i>n</i>	<i>+</i>	<i>Valor</i>	<i>I.C. 95%</i>	
<i>Vacunación</i>	<i>Si</i>	10	8	1.976*	0.54 – 7.20	19.534
	<i>No</i>	43	26			
<i>Tipo de vacuna</i>	<i>Cepa 19</i>	3	3			
	<i>RB51</i>	4	2	-	-	0.266
	<i>Cepa 19 + RB51</i>	3	3			
<i>Presencia de abortos</i>	<i>Si</i>	27	16	0.75	0.36 – 1.57	-9.97
	<i>No</i>	26	18			
<i>Manejo de material infeccioso (abortos)</i>	<i>Se deja en el campo</i>	14	8	1.028*	0.41 – 2.535	1.190
	<i>Se entierra</i>	12	7			
<i>Separación de animales enfermos</i>	<i>Si</i>	27	16	0.75	0.36 – 1.57	-9.971
	<i>No</i>	26	18			
<i>Movilización externa de los animales</i>	<i>Si</i>	18	11	0.881	0.42 – 1.84	-4.60
	<i>No</i>	35	23			
<i>Procedencia de animales de reemplazo</i>	<i>Propio</i>	22	14			
	<i>Fincas vecinas</i>	25	17	-	-	0.709
	<i>Ferías</i>	6	3			

Nota: n: número de fincas muestreadas; +: Número de fincas positivas a brucelosis; I.C 95%: intervalo de confianza al 95%, RR: Riesgo Relativo; Valor: RR>1 es significativo

Como se observa en la Tabla 28, los factores de riesgos asociados a la presencia de brucelosis bovinas en fincas del Noroccidente de Pichincha se determinaron según el valor de Riesgo Relativo mayor a 1, con lo cual, identificamos que el hecho de que los propietarios o trabajadores no tengan conocimiento sobre la brucelosis aumenta la probabilidad, en 1.37 veces más (RR), de que la infección se presente, por lo que la prevalencia de brucelosis en las fincas estudiadas pueden disminuir en un 11.60% (%Riesgo Atribuible) si se dieran capacitaciones a los ganaderos acerca de las afectaciones que produce la brucelosis y como se debe hacer un adecuado manejo sanitario. Como menciona (Taboada et al., 2005), la capacitación y programas educativos a ganaderos es una medida de prevención que garantizará la implantación de acciones que permitirán reducir los riesgos tanto en trabajadores, como en otras especies susceptibles, disminuyendo de manera notable el porcentaje de predios infectados.

También se ha determinado que la ausencia de un veterinario que brinde sus servicios aumenta 1.69 veces más (RR) la probabilidad de que se presente la enfermedad, permitiendo una disminución del 17.42% (%Riesgo Atribuible) si se logra contratar un veterinario para la zona que controle y evalúe la salubridad de las fincas.

Otro factor de riesgo detectado fue la falta de vacunación contra brucelosis, factor que aumentan 1.97 veces más (RR) la probabilidad de que los animales sean susceptibles a *Brucella* spp. Por lo cual, si se exigiera un certificado de predio libre de brucelosis, se lograría disminuir en aproximadamente 19.53% (%Riesgo Atribuible) la prevalencia en el Noroccidente de Pichincha.

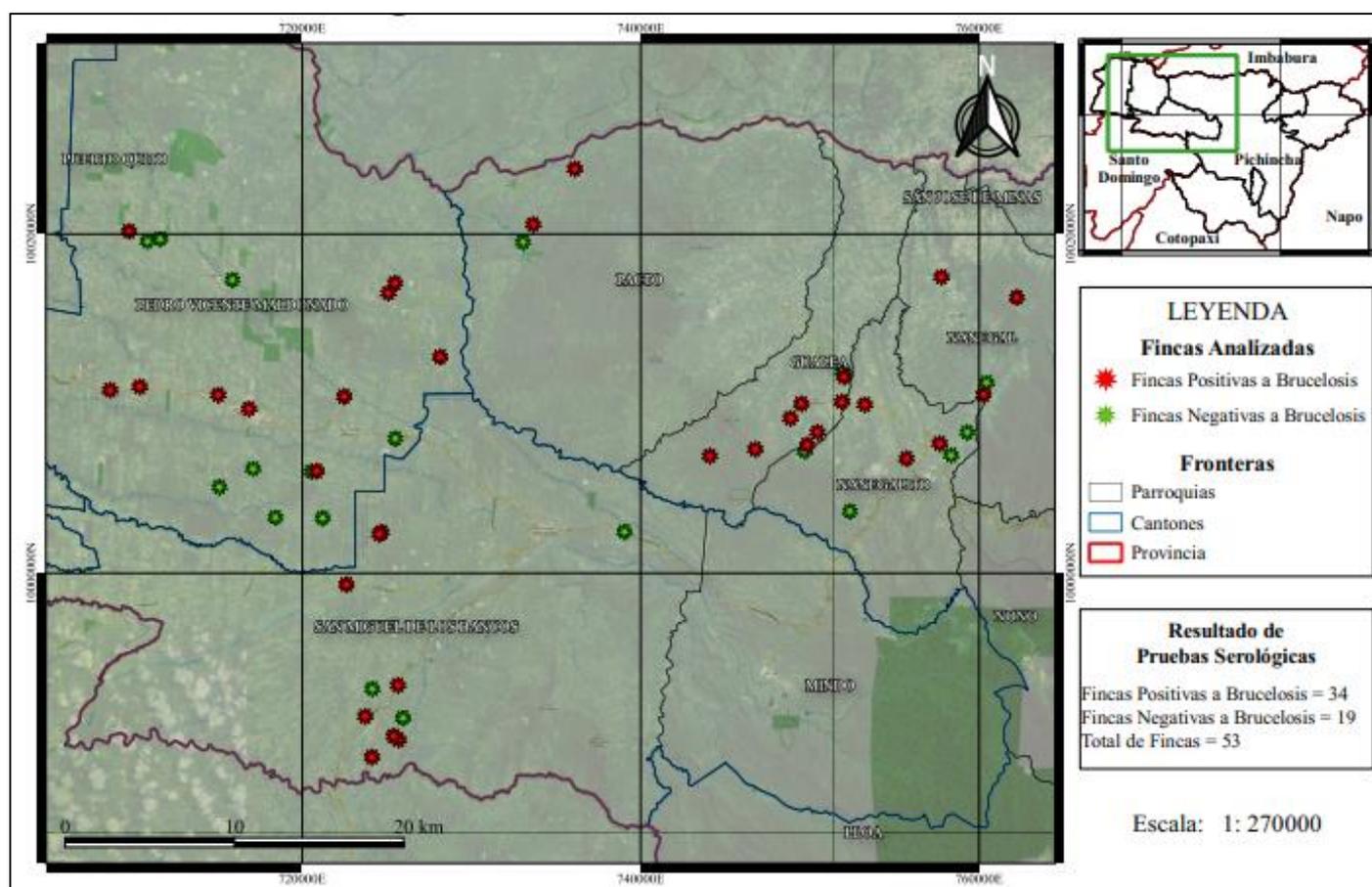
Finalmente, un adecuado manejo del material abortado lograría disminuir en un 1.19% (%Riesgo Atribuible) la prevalencia de la enfermedad, ya que es un factor que provoca un aumento de 1.02 veces más (RR) en comparación a situaciones en las cuales hay un adecuado manejo del material contaminante, ya sea por desinfección de los potreros o aplicación de cal. Estos resultados coinciden con un estudio realizado por (González, 2018), quien obtuvo que, la

presencia de abortos, el no manejar los residuos que estos producen y la salida inadecuada de los animales enfermos, incrementan la incidencia de brucelosis en las fincas. Sin embargo, también indica que la vacunación y la falta de conocimiento sobre la enfermedad y sus vías de transmisión no se están asociados a la infección por brucelosis, por lo cual no se consideran factor de riesgo para (González, 2018).

Georreferenciación de fincas ganaderas positivas a brucelosis

Figura 4

Distribución geográfica de brucelosis bovina en el Noroccidente de la provincia de Pichincha



Por medio del programa Q-GIS y la aplicación Epicollect 5 se recolectó las coordenadas geográficas de cada finca y se realizó un mapa correspondiente a la zona Noroccidental de Pichincha, que resume las fincas en las cuales se presentaron resultados positivos en al menos

una de las dos pruebas serológicas aplicadas, marcadas con un punto de color rojo, por otro lado, de color verde, se puede observar las fincas que resultaron negativas a las dos pruebas serológicas.

Es así que los resultados fueron entregados a cada propietario de las fincas muestreadas, acompañado de una capacitación a cargo del doctor veterinario Jorge Ron y el ingeniero Jimmy Jumbo, quienes explicaron la manera correcta de mantener un ganado libre de brucelosis y cómo actuar ante casos positivos en la finca, para la correcta eliminación del material infectado, como medio de prevención y control de la brucelosis.

Capítulo V

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

- La prevalencia en el Noroccidente de la provincia de Pichincha es del 10.32%, lo cual se determinó a partir del muestreo de 853 animales que resultaron positivos a al menos una de las pruebas serológicas aplicadas (RB o SAT); además se determinó que a nivel de finca la prevalencia es del 64.15%, por lo cual se considera que esta zona tiene una alta prevalencia siendo un riesgo para otras especies incluyendo el ser humano.
- Los factores de riesgo más representativos en cada finca fueron la falta de conocimiento acerca de la enfermedad, la falta de veterinarios en la zona, poca importancia al tema de vacunación contra *Brucella* spp, y mal manejo del material infeccioso producido después de un aborto. Sin embargo, a nivel de animales se logró determinar que el tipo de bovino es un factor de riesgo significativo en esta zona, al existir una mayor prevalencia en bovinos tipo *Bos indicus*.
- La distribución geográfica de los predios analizados nos indica un sesgo importante en cuanto a la distancia de muestreo, por lo cual permitió dividir al trabajo en dos zonas, las mismas que sirvieron como punto de encuentro para la entrega y socialización de los resultados con cada productor.

Recomendaciones

- Se recomienda hacer un análisis espacial más profundo con clúster, que nos permitiría evidenciar el agrupamiento de las fincas geográficamente; para un posterior análisis de las zonas que no han sido tomadas en cuenta y de esta forma se podría obtener un valor de prevalencia real dentro del Noroccidente de Pichincha.

- Sería importante realizar campañas de información sobre la enfermedad, y explicar la manera correcta de mantener un ambiente séptico dentro de la finca, para evitar contagios con las personas que tienen contacto directo con el manejo animal.
- También se deberían hacer estudios posteriores en los cuales se aislen e identifiquen al agente causal que circula en el Noroccidente de Pichincha, lo cual posibilitaría realizar controles más eficientes.

Bibliografía

- Acha P. (2001). *Zoonosis y enfermedades trasmisibles comunes al hombre y a los animales* (pp. 28–52).
- Acosta, A. (2017). PREVALENCIA DE BRUCELOSIS (*Brucella abortus*) EN VACAS EN PRODUCCIÓN LECHERA EN EL CANTÓN ESPEJO". *Pontificia Universidad Católica Del Ecuador*, 6, 5–9. [http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/200/1/1 TESIS.pdf](http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/200/1/1%20TESIS.pdf)
- Aedo, S., Pavlov, S., & Clavero, F. (2010). Riesgo relativo y Odds ratio ¿ Qué son y cómo se interpretan ? *Revista Obstetricia y Ginecología*, 5, 51–54.
<https://prevencion.umh.es/files/2015/03/riesgo-relativo-y-odds-ratio.pdf>
- AGROCALIDAD. (2016). Manual de Procedimientos para la Atención y Control de Brucelosis bovina en el Ecuador. *Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina*.
<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/resolucion-0131.pdf>
- AGROCALIDAD. (2019). *Panaftosa y Agrocalidad socializan los resultados del muestreo de brucelosis bovina a escala nacional*. PANAFTOSA Y AGROCALIDAD SOCIALIZAN LOS RESULTADOS DEL MUESTREO DE BRUCELOSIS BOVINA A ESCALA NACIONAL - AGROCALIDAD
- Aguilar, S. (2015). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud En Tabasco*, 7(1), 37–72.
https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civilwars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625

Álvarez, G., & Delgado, J. (2015). *Diseño de Estudios Epidemiológicos. El Estudio Transversal: Tomando una Fotografía de la Salud y la Enfermedad.*

<https://www.medigraphic.com/pdfs/bolclinhosinfson/bis-2015/bis151f.pdf>

Ávalos, O. (2000). Las pruebas diagnósticas. Su aplicación en los estudios epidemiológicos. *Nefrología*, xx. Las pruebas diagnósticas. Su aplicación en los estudios epidemiológicos (revistanefrologia.com)

Aznar, M. N., Samartino, L. E., Humblet, M. F., & Saegerman, C. (2014). Bovine Brucellosis in Argentina and Bordering Countries: Update. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61(2), 121–133. <https://doi.org/10.1111/tbed.12018>

Banco Central del Ecuador. (2018). *La economía ecuatoriana creció 14 en 2018.*

<https://www.bce.fin.ec/index.php/boletines-de-prensa-archivo/item/1158-la-economia-ecuatoriana-crecio-14-en-2018>

Barrera, S., & Guerrero, B. (2007). Resultados serológicos en ganadería cebuínas. *Revista El Cebú*, 32–37.

Barros, M. (2015). Determinación del índice de prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Naranjal provincia del Guayas. *Universidad Técnica de Machala.*

<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/1546>

Biberstein, E., & Chung, Y. (1994). Tratado de Microbiología Veterinaria. *Acribia*, 238–291.

Burgasí, E. (2014). Determinación de la prevalencia de las principales Enfermedades infecciosas y endoparasitarias en hatos lecheros de pequeños productores, en las comunidades de Taxojaló y Guantualó, del cantón Sigchos provincia de Cotopaxi. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.* <https://docplayer.es/93993029-Escuela->

superior-politecnica-de-chimborazo-facultad-de-ciencias-pecuarias-escuela-de-ingenieria-zootecnica.html

Cabezas, C., Benítez, C., Odio, F., Proaño, R., & Maldonado, G. (2019). Ganadería sostenible: guía de prácticas para el Noroccidente de Pichincha. *Proyecto EcoAndes, Programa Bosques Andinos, CONDESAN*. https://condesan.org/wp-content/uploads/2019/09/Ganadería-Sostenible-NO-Pichincha_web_final-1.pdf

Calderón, A., Angulo, L., Tique, V., Rodríguez, V., & Ensuncho, C. (2015). Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. *Universidad de Córdoba*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v19n2/v19n2a07.pdf>

California Department of Food & Agriculture - CDFA. (2021). *Brucelosis bovina*. https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/animal_health/pdfs/brucellosis/BovineBruceOutreach_Spanish.pdf

Campos, M., Rodríguez, J., Ponce, J., Torres, M., & Luna, J. (2017). Duración de Inmunidad Pasiva a *Brucella abortus* en becerros recién nacidos. *Equipo Técnico de SCCL Ltd*. <https://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2017/06/DURACION-DE-INMUNIDAD-PASIVA-A-BRUCELLA-ABORTUS-EN-BECERROS-RECIEN-NACIDOS-.pdf>

Center for Food Security & Public Health - CFSPH. (2009). *Brucelosis. Institute for International Cooperation in Animal Biologics*. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/!replaced/!brucelosis.pdf>

Cerda, J., Vera, C., & Rada, G. (2013). Odds ratio: Aspectos teóricos y prácticos. *Revista Medica de Chile*, 141(10), 1329–1335. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872013001000014>

- Cevallos, O., & Vera, R. (2013). Incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en el cantón Pichincha, Provincia de Manabí. *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*.
<https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/539>
- Córdova, A., Iglesias, A., Guerra, J., Villa, E., Juárez, M., Gómez, A., Pérez, J., Velázquez, V., & Sánchez, P. (2020). Importancia de la brucelosis bovina y consecuencias económicas para el ganadero. *BM Editores*. <https://bmeditores.mx/ganaderia/importancia-de-la-brucelosis-bovina-y-consecuencias-economicas-para-el-ganadero/#:~:text=Además%2C se resalta que las,et al.%2C 2011>
- Cvetković Vega, A., Maguiña, J. L., Soto, A., Lama-Valdivia, J., & Correa López, L. E. (2021). Cross-sectional studies. *Revista de La Facultad de Medicina Humana*, 21(1), 164–170.
<https://doi.org/10.25176/rfmh.v21i1.3069>
- Dagnino, J. (2014). Riesgo Relativo y Razón de Ventajas. *Bioestadística y Epidemiología. Revista Chilena de Anestesia*, 43. <https://revistachilenadeanestesia.cl/riesgo-relativo-y-razon-de-ventajas/>
- Escobar, J. (2011). Incidencia, prevalencia y el plan de control de la brucelosis bovina en los hatos lecheros en la Sierra Norte Ecuatoriana. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*.
- FAO. (2018). *Producción Animal*. Producción animal (fao.org)
- Freer, E., & Castro, R. (2001). *Brucella*: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100008
- García, G., Ramírez, E., Hernández, M., Orozco, H., Hernández, L., & Jiménez, J. (2013). Brucelosis: condición socioeconómica familiar y calidad de la vida en dos zonas

- contrastantes del estado de Tlaxcala, México. *Universidad Autonoma de Tlaxcala*, 241–259. <https://bmeditores.mx/ganaderia/importancia-de-la-brucelosis-bovina-y-consecuencias-economicas-para-el-ganadero/#:~:text=Adem%C3%A1s%2C%20se%20resalta%20que%20las,et%20al.%202011>
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Pedro Vicente Maldonado. (2021). *Producción Pecuaria*. Producción pecuaria (pedrovicentemaldonado.gob.ec)
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Puerto Quito. (2020). *Datos geográficos*. Datos Geográficos (puertoquito.gob.ec)
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de San Miguel de Los Bancos. (2022). *Economía*. Alcaldía de San Miguel de los Bancos - San Miguel de los Bancos (gadmsmb.gob.ec)
- Godfroid, J., Nielsen, K., & Saegerman, C. (2010). Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croatian Medical Journal*, 51(4), 296–305. <https://doi.org/10.3325/cmj.2010.51.296>
- González, P. (2018). Factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en vacas en producción lechera en el cantón Montúfar. *Universidad Politécnica Estatal Del Carchi*. [http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/603/1/INFORME DE INVESTIGACIÓN POLIVIO GONZÁLEZ .pdf](http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/603/1/INFORME%20DE%20INVESTIGACI%C3%93N%20POLIVIO%20GONZ%C3%81LEZ.pdf)
- Guaicha, O., & Idrovo, A. (2013). Odds Ratio. *Universidad de Cuenca*. Odds ratio (slideshare.net)
- Guerrero Casagualpa, R. L., Vélez Macías, M. A., Cevallos Bravo, K. A., & Mendoza Intriago, M. A. (2020). Causas, síntomas y tratamiento a los pacientes contagiados por

- brucelosis. *RECIMUNDO*, 4(4).
[https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(4\).octubre.2020.382-391](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.382-391)
- Guzmán, P. (2015). Plan de desarrollo turístico para la Parroquia Conocoto-Cantón Quito-Provincia Pichincha. *Universidad Tecnológica Equinoccial*. Plan de desarrollo turístico para la Parroquia Conocoto-Cantón Quito-Provincia Pichincha (1library.co)
- Henderson, B. (1988). Medicina Veterinaria. *Interamericana S. A*, 16-425.
- Hernández, B. (1991). Cruzamiento Bos taurus x Bos indicus en ganado de doble propósito. *Instituto Colombiano Agropecuario*, 404–415.
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/31204/28779_19625.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hidalgo, M., Vargas, O., & Vite, H. (2020). Análisis situacional de la actividad ganadera en la parroquia Palmales del cantón Arenillas. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 124–130. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/277/309>
- Hutyra, F., & Manniger, R. (1973). Patología y Terapéutica especiales de los Animales Domésticos. *Labor S. A*, 816 – 837.
- Ibarra Rosero, E. M., López Cevallos, E. N., López Cevallos, F. E., & Silva Guamán, J. R. (2021). “Una sola salud”, (one health): estudio de caso brucelosis en Carchi – Ecuador. *Horizontes de Enfermería*, 11, 70–80. <https://doi.org/10.32645/13906984.1085>
- Instituto Colombiano Agropecuario ICA. (2022). *Vacunación contra Brucelosis bovina*.
<https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/brucelosis-bovina-1/vacunacion-brucelosis.aspx#:~:text=El Programa Nacional de Brucelosis,edad en terneras y bucerras>

- Instituto Nacional de Estadística y Censos – INEC. (2021). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria – ESPAC*. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2021/Principales resultados-ESPAC_2021.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2021/Principales_resultados-ESPAC_2021.pdf)
- Jaramillo, V., & Yépez, C. (2013). Determinación de Seroprevalencia de Brucelosis Bovina en la Provincia de Pastaza y Posibles Factores de Riesgo Asociados con la Enfermedad. *Universidad Central Del Ecuador*, 83.
- Lopetegui, P. (2005). Avances de la erradicación de la brucelosis bovina en Chile. *Boletín Veterinario Oficial*, 1–14.
http://www2.sag.gob.cl/pecuaria/bvo/marzo_mayo_2005/articulos/avances_proyecto_erradicacion_brucelosis.pdf
- López, M. (2014). *Memoria Técnica del Cantón Puerto Quito*.
http://ideportal.iee.gob.ec/geodescargas/puerto_quito/mt_puerto_quito_sistemas_productivos.pdf
- Lucero, N., Ayala, S., Escobar, G., & Jacob, N. (2008). Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect*, 496–503.
- Mainato, S. (2017). Seroprevalencia de Brucella abortus como impacto en la reproducción bovina de la provincia del Cañar. *Universidad de Cuenca*.
<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26388/4/Tesis.pdf.pdf>
- Méndez, M., Rodríguez, E., & Sánchez, L. (2015). *Brucelosis, una zoonosis presente en la población: estudio de series de tiempo en México*.
<https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/7641/10452>

Meza, C., Morales, C., Siever, G., Manchego, S., Calle, E., & Angúlo, C. (2010).

Seroprevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca, Huánuco. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 223–226.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000200012&lng=es&tlng=es.

Ministerio de Agricultura, Ganadería, A. y P.-M. (2008). *Programa Nacional de Control de la Brucelosis Bovina*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/Resolucion-025-Programa-Brucelosis.pdf>

Motta, P., Herrera, W., Londoño, M., Rojas, E., & Rivera, L. (2018). *Prevalencia de brucelosis (Brucella spp) en bovinos del municipio de San Vicente del Caguán, Caquetá, Colombia*. <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v12n2a01.pdf>

Nicoletti, P., Jones, L., & Berman, D. (1978). Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *Vet. Med. Assoc*, 1450–1456.

Olsen, S. (2000). Vacunas disponibles para el control de brucelosis en animales. *Universidad de Investigación de Enfermedades Zoonóticas*. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51282/vacunasdisponibles_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE. (2018). *Brucelosis (Brucella abortus, B. melitensis y B. suis) (Infección Por B. Abortus, B. Melitensis y B. Suis)*. *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres*. 1–48. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCCELL.pdf

Padrón, O., Martínez, D., Peniche, A., & López, L. (2011). Historia de la brucelosis. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de La Universidad Veracruzana*, 24.

Paredes, A. (2021). Estudio epidemiológico y económico de la Brucelosis en bovinos de la parroquia San Pedro de Suma del cantón El Carmen de la Provincia de Manabí – Ecuador. *Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE*.

https://www.researchgate.net/publication/354554725_Estudio_epidemiologico_y_economico_de_la_Brucelosis_en_bovinos_de_la_parroquia_San_Pedro_de_Suma_del_canton_El_Carmen_de_la_Provincia_de_Manabi_-_Ecuador?enrichId=rgreq-0c813116f3a3ef7cbade2b9bf9f92d6f-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM1NDU1NDcyNTtBUzoXMDY3NjI0MzI2NzU4NDAwQDE2MzE1NTI4ODM3Njg%3D&el=1_x_3&_esc=publicationCoverPdf

Paucar, V., Ron, J., Benítez, W., & Celi, M. (2021). Bayesian Estimation of the Prevalence and Test Characteristics (Sensitivity and Specificity) of Two Serological Tests (RB and SAT-EDTA) for the Diagnosis of Bovine Brucellosis in Small and Medium Cattle Holders in Ecuador. *Universidad Católica de Santa María*. (PDF) Bayesian Estimation of the Prevalence and Test Characteristics (Sensitivity and Specificity) of Two Serological Tests (RB and SAT-EDTA) for the Diagnosis of Bovine Brucellosis in Small and Medium Cattle Holders in Ecuador (researchgate.net)

Plaut, R. (1984). *Análisis de riesgo. Alcance y Limitaciones para el administrador de Salud*.

<https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/17016/v96n4p296.pdf?sequence=1&isAll#:~:text=En epidemiología “factor de riesgo,lo general-su identificación haya>

Poulsen, K., Hutchins, F., McNultyCM, M., Zabala, C., Barragan, V., López, L., Trueba, G., & Bethe, J. (2014). Brucellosis in dairy cattle and goats in northern Ecuador. *M J Trop Med*, 712–715. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0362>

Programa Nacional de Sanidad Animal - PNSA. (1979). Diagnóstico de brucelosis bovina según provincias, Ecuador-1980. *RESANDINA I*, 26.

Ramírez, A. (2012). *La razón de posibilidades (odds ratios) como herramienta diagnóstica de campo*. https://www.3tres3.com/articulos/la-razon-de-posibilidades-odds-ratios-como-herramienta-diagnostica_30510/#:~:text=La OR se interpreta así,como mayor sea el número

Rivera, S., Castejón, O., García, A., D'Pool, G., Pérez, M., Torres, T., & Rojas, N. (2004). Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el Municipio la Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, XIV*.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95914211>

Rodríguez, R., Contreras, J., Benítez, W., Guerrero, K., Salcan, H., & Minda, E. (2015). Circulating Strains of *Brucella abortus* in Cattle in Santo Domingo De Los Tsachilas Province - Ecuador. *Front Public Health*.

Rodríguez, Y., Pérez, F., Igarza, A., Ramírez, W., Antúnez, G., & Ramírez, Y. (2005). Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. *Revista Electrónica de Veterinaria*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612657003>

Ron, J. (2018). Prueba de Rosa de Bengala (RB) para diagnóstico de brucelosis. *Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE*.

Ron, J. (2019a). Prueba de Seroaglutinación Lenta en Tubo (SAT) o Prueba de Seroaglutinación de Wright (SAW) para diagnóstico de brucelosis. *Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE*.

Ron, J. (2019b). Prueba ELISA para diagnóstico de IBR (Rinotraqueitis Infecciosa Bovina). *Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE*.

Ruiz, M. (1954). *Brucelosis. Comité de Expertos en Brucelosis de la Organización Mundial de la Salud.*

Saegerman, C., De Waele, L., Gilson, D., Godfroid, J., Thiange, P., Michel, P., Limbourg, B., Vo, T. K. O., Limet, J., Letesson, J. J., & Berkvens, D. (2004). Evaluation of three serum i-ELISAs using monoclonal antibodies and protein G as peroxidase conjugate for the diagnosis of bovine brucellosis. *Veterinary Microbiology*, 100(1–2), 91–105.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.02.003>

Salguero, A. (2014). Determinación de la prevalencia serológica de brucelosis en bovinos de las provincias de Carchi, Esmeraldas e Imbabura y análisis de factores de riesgo. *Universidad Central Del Ecuador.*
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14885/1/T-UCE-0014-061-2018.pdf>

Seleem, M., Boyle, S., & Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol*, 392–398.

Senado, J. (1999). Los factores de riesgo. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 446–452. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251999000400018&lng=es&tlng=es

Servicio Agrícola y Ganadero - SAG. (2021). *Brucelosis bovina (BB).*
<https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/brucelosis-bovina-bb>

Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal - SENACSA. (2017). *Programa Nacional de Control, Prevención y Erradicación de la Brucelosis.*
<https://www.senacsa.gov.py/index.php/Temas-pecuarios/sanidad-animal/programas-sanitarios/brucelosis-bovina>

Sistema de Información Zoonositaria del Ecuador – SIZSE. (2020). *Enfermedades de los Animales Terrestres Confirmadas en Ecuador- agosto 2020*.

<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2021/04/Agosto-2020.pdf>

Sutherland, S. S. (1984). Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of cattle infected with *Brucella abortus*. *Veterinary Microbiology*, 10(1), 23–32.

[https://doi.org/10.1016/0378-1135\(84\)90053-1](https://doi.org/10.1016/0378-1135(84)90053-1)

Taboada, N., Campo, M., Leiva, R., Gómez, J., Mansilla, C., & Salazar, M. (2005).

Seroprevalencia de Brucelosis en ganado caprino en hatos del Callao, Perú. *Rev. Perú Med. Exp*, 139–144.

United States Department Of Agriculture - USDA, & Animal And Plant Health Inspection Services – APHIS. (2003). Availability of an Environmental Assessment for Licensing of *Brucella abortus* Vaccine, Strain RB–51. *Live Culture*.

Zambrano, D., & Pérez, M. (2015). Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista de Salud Animal*, 164–172.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2015000300004&lng=es&tng=es

Zambrano, L. (2018). La ganadería, ante el reto de pesar en la economía. *Expreso*.

<https://www.expreso.ec/economia/ganaderia-reses-economia-produccion-agricultura-EX2198170>

Enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1h_dcszJfYIHkk8LO--ncaHyKUXol1xfW?usp=sharing

