



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
AGROPECUARIA**

**TEMA: “PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN GANADO BOVINO  
EN LA PARRÓQUIA SAN PEDRO DE SUMA CANTÓN EL  
CARMEN”**

**AUTORES**

**PARRA LÓPEZ, VERÓNICA PRISCILA**

**TIPANLUISA CUASQUER, DIANA CAROLINA**

**DIRECTOR: Dr. GÓMEZ MENDOZA, GELACIO ANTONIO**

**SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS**

**2018**

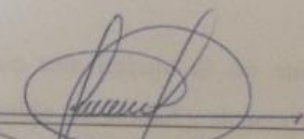


**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación **“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN GANADO BOVINO EN LA PARRÓQUIA SAN PEDRO DE SUMA CANTÓN EL CARMEN”**. Realizado por los estudiantes **VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ** y **DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER**, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar a los señores **VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ** y **DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER** para que lo sustenten públicamente.

Santo Domingo, 22 de mayo del 2018



MSc. GELACIO ANTONIO GÓMEZ MENDOZA  
DIRECTOR



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

iii

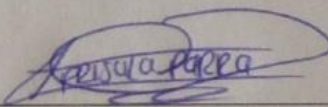
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Nosotros, **VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ** con cedula de identidad N° 0503340721 y **DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER** con cedula de identidad N° 0502877772 declaramos que este trabajo de **“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN GANADO BOVINO EN LA PARRÓQUIA SAN PEDRO DE SUMA CANTÓN EL CARMEN”**, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existente, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

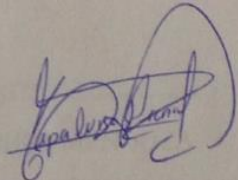
Consecuentemente declaramos que este trabajo es de nuestra autoría, en virtud de ello nos declaramos responsables del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Santo Domingo, 22 de mayo del 2018



---

VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ  
C.C. 0503340721



---

DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER  
C.C. 0502877772



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**AUTORIZACIÓN**

Nosotros, **VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ** y **DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER**, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la Biblioteca virtual de la Institución el presente trabajo de titulación **“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN GANADO BOVINO EN LA PARRÓQUIA SAN PEDRO DE SUMA CANTÓN EL CARMEN”**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra autoría y responsabilidad.

Santo Domingo, 22 de mayo del 2018

VERÓNICA PRISCILA PARRA LÓPEZ  
C.C. 0503340721

DIANA CAROLINA TIPANLUISA CUASQUER  
C.C. 0502877772

## DEDICATORIA

A Dios, por haberme acompañado en todo momento bueno y malo en este proceso y ayudarme a sobresalir de las calamidades.

A mi madre Verónica López, por ser el pilar más importante, por demostrarme y brindarme constantemente siempre su apoyo incondicional ante cualquier adversidad.

A mi padre Kleber Parra, a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo en cada momento.

A mis hermanos Cristina, Jhoel y Andrés; a mis sobrinos Daniel y Paula gracias por todo el cariño, ocurrencias y colaboración los quiero mucho.

A Jeferson Castillo por motivarme a ser mejor cada día, por ser incondicional en mi vida y por todo el amor brindado.

En general a toda mi familia que me han ayudado de una u otra forma para lograr culminar este éxito en mi vida.

Priscila

## **DEDICATORIA**

A nuestro divino creador Dios, por estar ahí acompañándome siempre en cada proceso de preparación, ofreciéndome día a día el regalo más bonito que es la vida.

A mis queridos padres Gregorio Tipanluisa y Martha Cuasquer, por brindarme todo su cariño y amor incondicional, por todos sus consejos que han sido de gran importancia para mi formación personal, son mi ejemplo de lucha y definitivamente gracias a todo su esfuerzo y apoyo hoy estoy aquí, alcanzando una de las metas propuestas en mi vida.

A mis hermanos Nancy, Diego y Darwin, por apoyarme, porque gracias a ellos mi vida se llena de anécdotas divertidas que siempre quedaran guardadas en mi corazón.

A Paul Añazco, por la ayuda y el amor brindado, estuviste a mi lado en momentos que sentí que no podría superar pero fuiste esa voz de aliento y optimismo siempre. Me ayudaste hasta donde te fue posible incluso hasta más que eso.

Diana

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Gelacio Gómez por sus enseñanzas, tiempo y paciencia brindado durante este proyecto.

Al Dr. Armando Reyna por su colaboración científica, guía, por estar pendiente en cada paso de este proyecto, por su apoyo con las instalaciones y equipos para el procesamiento de las muestras.

Al Ing. Andrés Vargas por facilitarnos el laboratorio y a la vez los materiales

Al Laboratorio de Biotecnología Animal de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE por facilitarnos los equipos necesarios.

A John Sornoza y Adrian Borbor por la ayuda brindada durante el procedimiento de la fase de campo, su ayuda fue fundamental para poder lograr este proyecto.

A los ganaderos de las comunidades donde se realizó la investigación, por brindarnos la oportunidad de trabajar con ellos.

A todos, muchas gracias.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### CARÁTULA

CERTIFICACIÓN .....	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD.....	iii
AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS .....	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
I. INTRODUCCIÒN .....	1
II. REVISIÒN DE LITERATURA.....	4
2.1. Brucelosis Bovina.....	4
2.2. Etiología especies .....	4
2.2.1. Etiología .....	4
2.2.2. Especies.....	4
2.3. Epidemiología.....	5
2.3.1. Epidemiología Animal .....	5
2.3.1.1. Epidemiología por Monta Natural.....	6
2.3.2. Epidemiología Humana.....	7
2.5. Signos clínicos de la enfermedad en Bovinos .....	8



2.6.	Factores de riesgo .....	8
2.7.	Importancia económica.....	9
2.7.1.	Diagnóstico por serología.....	9
2.7.2.	Diagnóstico bacteriológico.....	10
2.8.	Pruebas de Diagnóstico Serológico .....	10
2.8.1.	Prueba de aglutinación rápida en placa. "Rosa de Bengala" (RB).....	10
2.8.2.	Prueba de aglutinación lenta en tubo, o de Wright. (SAT) .....	10
2.8.3.	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA indirecto) .....	11
2.9.	Control de la enfermedad .....	11
2.10.	Profilaxis.....	12
2.10.1.	Vacuna <i>Brucella abortus</i> Cepa 19. ....	12
2.10.2.	Vacuna <i>Brucella abortus</i> RB51 .....	12
2.11.	Estrategia de prevención y control.....	13
2.12.	Distribución de la enfermedad en el Ecuador .....	13
III.	MATERIALES Y METODOS .....	15
3.1.	Ubicación del lugar de investigación.....	15
3.1.1.	Ubicación política .....	15
3.1.2.	Ubicación geográfica.....	15
3.2.	Materiales .....	16
3.2.1.	Materiales de campo.....	16
3.2.2.	Materiales de laboratorio.....	17
3.2.3.	Equipos.....	17
3.2.4.	Reactivos .....	17
3.2.4.1.	Reactivos para Rosa de Bengala.....	17
3.2.4.2.	Reactivos para ELISA .....	17
3.2.5.	Materiales de Oficina .....	18
3.3.	Método.....	18
3.3.1.	Fase de campo .....	19
3.3.1.1.	Encuestas Epidemiológicas .....	19
3.3.1.2.	Toma de Muestras en Animales .....	19
3.3.2.	Fase de Laboratorio.....	19

3.3.2.1.	Laboratorio .....	19
3.3.2.2.	Prueba de Diagnóstico .....	19
3.3.2.3.	Para la Prueba “Rosa de Bengala” (RB).....	20
3.3.2.4.	Para la Prueba Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA indirecto) .....	20
3.3.2.5.	Para la recolección de datos de los factores de riesgo .....	21
3.3.3.	Análisis Económico.....	21
3.3.4.	Variables medidas .....	22
3.3.4.2.	Validación e interpretación aplicados en ELISA indirecto .....	22
3.3.4.3.	Prevalencia Animal.....	23
3.3.4.5.	Sensibilidad .....	24
3.3.4.6.	Especificidad .....	25
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1.	Análisis descriptivo del resultado obtenido por medio de los exámenes serológicos bovinos.....	26
4.2.	Comparación por resultados .....	27
4.3.	Comparación RB vs iELISA .....	28
4.4.	Concordancia entre las pruebas diagnósticas Rosa de Bengala y Elisa indirecta .....	30
4.5.	Prevalencia aparente .....	30
4.5.1.	Prevalencia aparente a nivel de UPA .....	31
4.5.2.	Prevalencia aparente a nivel de animales .....	31
4.6.	Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnostico utilizadas .....	31
4.6.1.	Sensibilidad .....	31
4.6.2.	Especificidad .....	31
4.7.	Costo de descarte por animal.....	32
4.8.	Análisis descriptivo de los resultados de la encuesta sobre factores de riesgo. ....	33
4.8.1.	Datos generales de la explotación .....	34
4.8.2.	Sistema de reproducción .....	34
4.8.3.	Presencia de abortos en la explotación.....	35
4.8.4.	Destino de los tejidos abortados.....	36
4.8.5.	Vacunación de Brucelosis .....	36
4.8.6.	Conocimiento sobre la enfermedad.....	37

VII. BIBLIOGRAFÍA.....	41
------------------------	----

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Supervivencia de <i>Brucella</i> en el medio ambiente .....	6
Tabla 2. Lectura de los resultados obtenidos en la prueba iELISA .....	23
Tabla 3. Resultados obtenidos en el muestreo por hatos ganaderos .....	26
Tabla 4. Comparación de los resultados .....	27
Tabla 5. Resultado RB y ELISA .....	28
Tabla 6. Comparación de los resultados obtenidos .....	29
Tabla 7. Costos asociados a pérdidas económico.....	32
Tabla 8. Impacto económico de la brucelosis bovina en la producción ganadera. ....	33
Tabla 9. Datos generales de la explotación.....	34
Tabla 10. Procedencia del toro reproductor para el sistema reproductivo monta natural. ...	35

Tabla 11. Presencia de abortos.....	35
Tabla 12. Destino de los tejidos abortados.....	36
Tabla 13. Vacunación de Brucelosis.....	37

### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo infeccioso de <i>brucella abortus</i> .....	7
Figura 2. Regiones epidemiológicas de brucelosis bovina en Ecuador. ....	14
Figura 3. Ubicación de las comunidades del ensayo.....	15
Figura 4. Valoración del coeficiente Kappa.....	24

## RESUMEN

La brucelosis bovina es una enfermedad producida por la bacteria conocida como *Brucella abortus*, esta bacteria produce infecciones crónicas en el ganado vacuno como en las personas que trabajan en el manejo de estos animales. La importancia de la realización de estudios constantes sobre esta enfermedad en diferentes zonas, es que es zoonótica, es decir las personas que trabajen en contacto directo con las secreciones de estos animales infectados pueden contraer la enfermedad. El presente trabajo de investigación sobre la prevalencia de brucelosis bovina se llevó a cabo en El Cantón El Carmen, en la Parroquia San Pedro de Suma en el Sector Limones. Durante el desarrollo de la investigación se recolectaron un total de 300 muestras de suero sanguíneo correspondientes a 13 fincas ganaderas distribuidas dentro de la zona de estudio. Las mismas fueron analizadas utilizando dos pruebas serológicas como fueron Rosa de Bengala (Prueba Tamiz) y Elisa indirecta (Prueba Confirmatoria), dando como resultado una prevalencia del 11% de brucelosis bovina, lo que indica que se debe reforzar las estrategias de prevención y erradicación a través de políticas públicas eficaces. Se realizó un estudio de los factores de riesgo que influyen en la iniciación, diseminación, el mantenimiento y control de la enfermedad. Además se efectuó el análisis económico en donde se obtuvo que el costo por descarte de cada animal infectado es de \$2217 dólares, al tener 33 animales infectados dentro de la investigación, el valor por pérdida total es de \$ 73161 dólares.

### **PALABRAS CLAVES.-**

- **BRUCELOSIS**
- **BACTERIA**
- **ELISA**
- **ROSA DE BENGALA**

## ABSTRACT

The Bovine Brucellosis is a disease caused by the bacteria known as *Brucella abortus*, this bacterium produces chronic infections in cattle as in people who work in the management of these animals. The importance of the realization of constant studies on this disease in different areas, is that it is zoonosica, i.e. the people who work in direct contact with the secretions of these infected animals can get the disease. The present research on the prevalence of bovine brucellosis was conducted in the El Cantón El Carmen, en la Parroquia San Pedro de Suma en el Recinto Limones. During the development of the research, a total of 300 samples of blood serum corresponding to 13 livestock farms distributed within the study area were collected. They were analyzed using two serological tests such as Rose Bengal (Screen Test) and indirect Elisa (Confirmatory Test), resulting in a prevalence of 11% of bovine brucellosis, indicating that prevention and eradication strategies should be reinforced through effective public policies. A study was made of the risk factors that influence the initiation, dissemination, maintenance and control of the disease. In addition, the economic analysis was carried out in which it was obtained that the cost per discard of each infected animal is \$ 2217 dollars, having 33 infected animals within the investigation, the value for total loss is \$ 73161 dollars.

### KEYWORDS.-

- **BRUCELLOSIS**
- **BACTERIA**
- **ELISA**
- **ROSE BENGAL**

## 1. INTRODUCCIÒN

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa ocasionada por las bacterias del genero *Brucella*, en la actualidad se han identificado a nueve especies de las cuales cuatro son zoonóticas, es decir que pueden ser transmitidas al hombre y provocar graves problemas de salud, estas bacterias son: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. melitensis* y *B. suis*. Y están relacionadas con ganado bovino, perros, ovejas y cerdos, respectivamente. Otras especies como *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. pinipedialis* y *B. inopinata* son específicas del huésped (Rodríguez, y otros, 2015).

En el ganado bovino la brucelosis es causada por la bacteria *Brucella abortus*, y suele ocasionar que las hembras aborten entre el quinto a séptimo mes de gestación ó nacimiento de terneros débiles, disminución de la producción láctea, entre otros problemas reproductivos y en los machos alteraciones testiculares y disminución de la fertilidad. (OIE, 2008). Es zoonótica, por lo cual las personas que se encuentran en contacto directo con las secreciones de animales infectados o ingesta de alimentos contaminados (leche, derivados de la leche sin pasteurizar) también pueden adquirirla, ocasionando graves problemas en su salud (Carbonero, y otros, 2017), esta zoonosis lleva principalmente a pérdidas en el tiempo de trabajo y los costos relacionados con el diagnóstico y el tratamiento. (Ron-Roman, y otros, 2014).

En muchos países, la brucelosis es una enfermedad importante que causa pérdidas económicas graves en la producción de ganado. En Ecuador, estas pérdidas se estiman en 5.5 millones de dólares por año (Torres & Sandoval, 2008).

La prevalencia de infección por *Brucella abortus* en el ganado varía notablemente según el área geográfica, países de Europa Occidental y del Norte, así como Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda, están libres del agente infeccioso (OIE, 2008), mientras que en nuestro país Ecuador y países vecinos, hay programas de erradicación los cuales confirman la presencia de esta enfermedad, Como consecuencia, se imponen restricciones impidiendo el comercio internacional de carne o derivados de la leche (Carbonero, y otros, 2017). Además, se aumenta el

gasto que implica para los productores, la prevención de la enfermedad a través de la vacunación y la aplicación de tratamientos clínicos en animales enfermos o descartar los animales confirmados como positivos, así como el gasto que implica al Estado en la implementación y mantenimiento de programas sobre la prevención y control sanitario. (Torres & Sandoval, 2008).

El diagnóstico tiene como finalidad descubrir los animales infectados, conocer la prevalencia y distribución, para esto se emplean pruebas serológicas. Se utilizan pruebas destinadas al control colectivo, asociadas a pruebas complementarias, en el caso de que se presenten reacciones dudosas, las muestras empleadas son la sangre, extraída del animal vivo o la leche. La prueba serológica ideal sería aquella que permitiera un diagnóstico rápido, económico y que diferencie a un animal infectado de uno vacunado, sin embargo es difícil encontrar una que reúna estas tres sugerencias. La prueba de rosa de bengala consiste en una aglutinación rápida en placa con suero puro y un antígeno coloreado, es considerada como una prueba económica, sencilla y rápida las pruebas de Elisa también forman parte de las pruebas más recomendadas debido a su alta sensibilidad sin embargo esta no es económica (OIE, 1986).

La Provincia de Manabí es considerada en forma general como la provincia de más alta prevalencia de brucelosis, por lo cual se requiere generar información sobre la situación actual, ya que no existe estudios recientes sobre todo en aquellos recintos apartados el cual es el caso del Recinto Limones perteneciente a la Parroquia San Pedro de Suma, esta zona es reconocida por manejar ganado. Al determinar la prevalencia de brucelosis, se pueden gestionar campañas de erradicación para este sector (Torres & Sandoval, 2008).

Es importante realizar dichos estudios de manera constante para poder hacer comparaciones evolutivas sobre el conocimiento de los ganaderos productores de leche, carne o para los productores dedicados al comercio de los derivados de estos. (Torres & Sandoval, 2008).



## **Objetivos**

### **General**

- Determinar la prevalencia de brucelosis bovina en la Parroquia San Pedro de Suma cantón El Carmen.

### **Específicos**

- Cuantificar la prevalencia de brucelosis bovina mediante las pruebas serológicas Rosa de Bengala y Elisa indirecta.
- Establecer una comparación entre las pruebas serológicas empleadas.
- Identificar los factores de riesgo a través de encuestas epidemiológicas.
- Realizar análisis económico del costo que significaría en caso de presentarse la enfermedad en comparación con prevenir la enfermedad.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Brucelosis Bovina**

La brucelosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa, provocada por la bacteria *Brucella abortus*, en Ecuador la prevalencia va en mayor o menor grado dependiendo la zona (Espinosa, 2010).

Esta enfermedad genera arduas pérdidas por las diversificaciones reproductivas; además es de notificación obligatoria en varios países, incluido Ecuador y representa una grave zoonosis humana, por lo que genera gran importancia en salud pública (Chavez, 2013).

Principalmente afecta a las personas que se encuentran involucradas con el trabajos con animales, el manejo de carne o leche, como los que laboran en mataderos, ganaderos y los veterinarios, son los que más riesgos poseen (García, 2008).

### **2.2. Etiología especies**

#### **2.2.1. Etiología**

El género *Brucella* está formado por bacterias Gram-negativas, que observadas al microscopio como cocobacilos, son muy resistentes en ambientes secos lo que aporta a que puedan permanecer viables en el ambiente durante largo tiempo o en los alimentos, como lácteos, cárnicos, fluidos de placenta y abortos (Macías, 2003).

#### **2.2.2. Especies**

En la actualidad, se conocen siete especies de *Brucela*: *melitensis*, *abortus*, *suis*, *neotomae*, *ovis*, *canis* y *maris*. Las tres primeras, denominadas "*brucelas clásicas*", se han subdividido a la vez en biotipos, que se distinguen por sus 5 características bioquímicas y/o comportamiento frente a los sueros mono específicos A (*abortus*) y M (*melitensis*) (Chavez, 2013).

## **2.3. Epidemiología**

### **2.3.1. Epidemiología Animal**

La principal vía de ingreso de la bacteria es oral, por el consumo de alimentos o agua que esté contaminada, por abortos de vacas infectadas, además por el contacto por del lamido de las secreciones vaginales, y los becerros recién nacidos de vacas infectadas. La *Brucella* es eliminada de forma natural por la expulsión de leche en las vacas infectadas y a la vez es transmitida al becerro. Otra forma de contagio es en los establos lecheros, específicamente en el ordeño cuando se utiliza las mismas copas de ordeño en varias vacas existe una gran probabilidad que la bacteria se transmita entre animales (Diaz, 2013).

En las hembras no gestantes la enfermedad no presenta síntomas, mientras que en las hembras adultas gestantes después de tener la infección por *B. abortus* es lo más común que se provoque abortos (Rodriguez & Ramirez, 2005).

En la transmisión vertical un 60% a 70% de los fetos nacidos de madres infectadas nacen infectados. En el nacimiento las crías también se pueden infectar durante la labor de parto al momento de atravesar el canal del parto, o bien al lactar calostro de vacas infectadas (Diaz, 2013).

**Tabla1.***Supervivencia de Brucella en el medio ambiente*

<b>Material</b>	<b>Tiempo de supervivencia</b>
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones en verano	10-30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37 °C y pH 7.5	Menos de 1 día
Agua a 8 °C y pH 6.5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6-8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8 °C	1-2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1-100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días

Fuente (Espinosa, 2010).

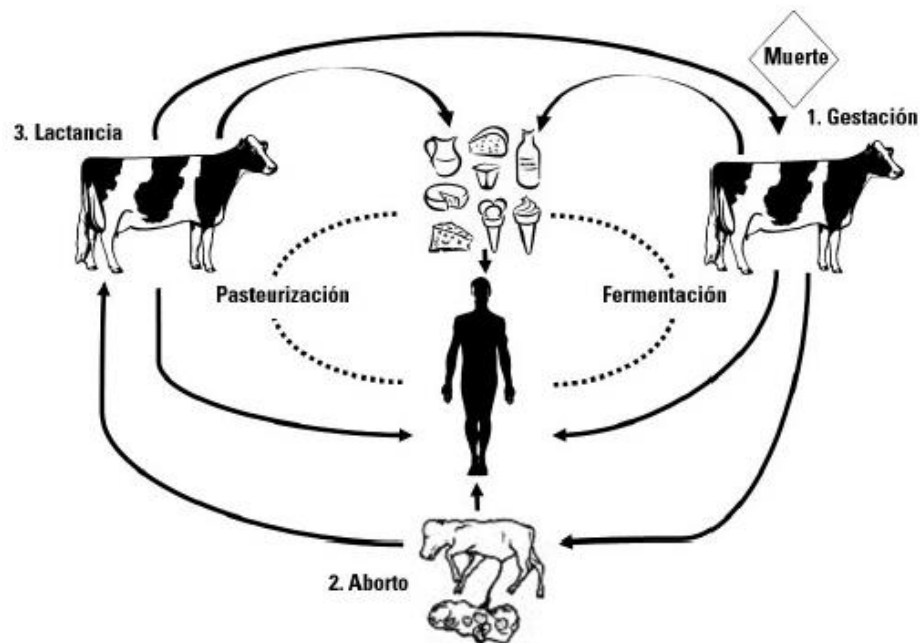
**2.3.1.1. Epidemiología por Monta Natural**

No hay pruebas concluyentes de que el toro transmita la bacteria en el momento del servicio. En caso de inseminación artificial con semen de toros provenientes con la infección de *Brucella* si puede darse el caso de que la vaca se infecte (Parada, 2004).

El trasplante de embriones no tratados de una manera apropiada, también puede ser una fuente de infección (Espinosa, 2010).

### 2.3.2. Epidemiología Humana

La enfermedad puede ser transmitida mediante tres mecanismos: contagio directo, inhalación y vía indirecta, mediante el consumo de productos lácteos no pasteurizados. El contacto a través de materiales infectados como son: placentas, abortos, estiércol, sangre y la extracción de semen, etc. (Macías, 2003).



*Figura 1.* Ciclo infeccioso de *brucella abortus*

Fuente: (Arenas & Moreno, 2016).

### 2.4. Signos clínicos de la enfermedad en Humanos

La brucelosis es una zoonosis infecciosa para el ser humano, causando diferentes síntomas como son: fiebre ondulante o fiebre de Malta, fiebre intermitente o irregular, cefalea, debilidad,

sudor abundante, escalofríos, pérdida de peso y dolor general. También puede producirse la infección de órganos como el hígado o el bazo (OIE, 2008).

## **2.5. Signos clínicos de la enfermedad en Bovinos**

La hembra infectada por la bacteria brucella muestra pocos signos clínicos hasta que aborta, además de infertilidad, retención de placenta. Muchas veces existe inflamación testicular en los machos provocando orquitis (OIE, 2008).

## **2.6. Factores de riesgo**

Los factores de riesgo que influyen en la iniciación, la diseminación, el mantenimiento y el control de la brucelosis bovina están relacionado con la población animal, el manejo y la biología de la enfermedad. Las variables que contribuyen significativamente a la seropositividad los animales son:

- Tamaño de las instalaciones de la granja
- Porcentaje de animales inseminados artificialmente
- Tamaño de la inversión en el ganado
- Número de vacas que abortaron en el año, ya sea o no lechería (Radostits, 2006).

Los factores de riesgo asociados con la diseminación de la enfermedad dentro de una manada incluyen animales no vacunados en rebaños infectados, tamaño de rebaño, densidad de población, método de alimentación y uso de corrales de maternidad. Los grandes tamaños de rebaños a menudo se mantienen mediante la compra de ganado de reemplazo, que puede estar infectado (Radostits, 2006).

## **2.7. Importancia económica**

Las pérdidas en la producción animal debido a esta enfermedad pueden ser de gran importancia, principalmente debido a la disminución de la producción de leche en las vacas abortadas. La secuela común de la infertilidad aumenta el período entre las lactancias, el período promedio de días abiertos puede prolongarse por varios meses. Además de la pérdida de producción de leche, hay pérdida de terneros e interferencia con el programa del ternero nacido. Esto es de gran importancia en los hatos ganaderos, donde los terneros representan la única fuente de ingresos. Una alta incidencia de infertilidad temporal y permanente, además algunas muertes ocurren como resultado de una metritis aguda después de la retención de la placenta (Radostits, 2006).

### **2.7.1. Diagnóstico por serología**

El diagnóstico serológico es el más frecuente para determinar brucelosis bovina, es conocido como un método indirecto, el cual permite detectar la presencia de anticuerpos frente al antígeno específico de la Brucella, lo cual es detectable desde la segunda y tercera semana después de la exposición; período en el cual aparecen los anticuerpos aglutinantes frente al antígeno brucelar (Morera, 2005).

Las pruebas que se emplean en el diagnóstico serológico en forma habitual corresponden a las consideradas: básicas, complementarias y confirmatorias que en conjunto y por selección nos ayudan a establecer el diagnóstico que en definitiva se logra con el aislamiento bacteriológico y tipificación y sus biovariedades del agente causal de la enfermedad que en este caso la Brucella, ayudado por supuesto con la demostración de la presencia de anticuerpos en el suero del y/o animal(es) (Morera, 2005).

En la actualidad existen variedad de pruebas para el diagnóstico serológico de brucelosis, estas son: antígeno bufferado en placa (BPA), aglutinación en placa, en tubos, Rosa de Bengala, fijación del complemento, ELISA competitivo e indirecto, prueba de anillo en leche, test de polarización, de hipersensibilidad, (Bahena, 2003).

### **2.7.2. Diagnóstico bacteriológico**

Se realiza el aislamiento y el cultivo de bacterias a partir de placenta, liquido estomacal fetal, feto abortado, etc. A veces quedan focos de infección en la ubre, por lo que se puede aislar la bacteria a partir de leche o de secreciones de ubres no lactantes.

## **2.8. Pruebas de Diagnóstico Serológico**

### **2.8.1. Prueba de aglutinación rápida en placa. "Rosa de Bengala" (RB)**

Esta prueba se utiliza como tamiz o como una prueba calificativa de diagnóstico y vigilancia epidemiológica en zonas y hatos libres brucella\_ (Morera, 2005).

La prueba es un procedimiento cualitativo de ejecución y observación rápida de macro aglutinación hecha en una sola dilución evidenciando principalmente anticuerpos de tipo IgG. Bases metodológicas: se coloca en la placa el suero (30µL) con 30µL de antígeno (RB) y se observa la presencia de aglutinaciones (Morera, 2005).

Antígeno: suspensiones de *B. abortus* al 8,5%, ajustadas a pH ácido, con el agregado del colorante Rosa de Bengala.

Anticuerpos: IgM e IgG1. Como resultado obtenemos una muestra positiva o negativa (Castro, 2005).

### **2.8.2. Prueba de aglutinación lenta en tubo, o de Wright. (SAT)**

Esta prueba, tiene como base la aglutinación de una suspensión de Brucella inactivadas, contiene una cantidad constante de antígeno, y además, tiene diluciones de incremento de la



muestra o suero. Pone en evidencia las IgM, y en menos grado IgG, y puede ser empleada para detectar infecciones agudas, los anticuerpos presentes en el suero o muestra, son obtenidos de forma cuantitativa (Paredes, 2012).

### **2.8.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA indirecto)**

Únicamente se recomienda el uso de las pruebas ELISA que utilizan el LPS liso de *B. abortus*. El ELISA indirecto (IELISA), específico para detectar IgG del tipo 1, arroja resultados casi exactamente equivalentes a los obtenidos en la prueba de fijación de complemento. Esta prueba, puede ser utilizada, para analizar muestras de suero o de leche (OIE, Brucelosis, 2013).

La técnica se la realiza en una placa de poliestireno donde se coloca el suero, los anticuerpos anti-IgG bovino conjugado a una enzima (peroxidasa) y un cromógeno o sustrato. El resultado es una reacción colorimétrica donde la intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en el suero de estudio (OIE, 2008)

El IELISA ha ganado amplia aceptación para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina debido a su capacidad para detectar anticuerpos de todos los isótopos, a diferencia de las pruebas convencionales (Radostits, 2006).

La sensibilidad de esta prueba está en un rango de 93 % y 97 %, y mientras que la especificidad oscila en 98 % (OIE, 2004).

## **2.9. Control de la enfermedad**

La única forma de erradicar la enfermedad en un hato ganadero, es a través de la realización de un calendario sanitario correcto, que conste la vacunación, las medidas sanitarias, el manejo en el hato y exámenes sanguíneos para diagnosticar, identificar y eliminar los animales infectados de

la finca. Cabe indicar que los exámenes deben realizarse a todos los animales en la finca como son: caballo, cerdos, perros, para eliminar por completo la enfermedad (Espinosa, 2010).

Los humanos que pertenecen a la finca también deben realizarse los exámenes periódicamente, debido a que es una enfermedad zoonosica (OIE, 2013).

## **2.10. Profilaxis**

### **2.10.1. Vacuna *Brucella abortus* Cepa 19.**

La vacuna *B. abortus* cepa 19 ha sido la más ampliamente utilizada para prevenir la brucelosis bovina. La vacuna protege a los animales no infectados que viven en un ambiente contaminado, permitiendo que los animales infectados sean eliminados gradualmente (Radostits, 2006)

La vacunación debe realizarse de tres a ocho meses de edad aunque se puede aplicar a los animales de mayor edad, su inconveniente radica en que pueden persistir los títulos de anticuerpos después de los 24 meses de edad lo que interfiere en los resultados del diagnóstico, puede provocar abortos.

Los animales vacunados tienen un alto grado de protección contra el aborto y el 65-75% son resistentes a la mayoría de los tipos de exposición. El restante 25-35% de los animales vacunados pueden infectarse, pero generalmente no abortan. Experimentalmente, el 25% de los bovinos vacunados con la cepa 19 se infectarán después de la exposición (Radostits, 2006).

### **2.10.2. Vacuna *Brucella abortus* RB51**

La vacuna RB51 es para la inmunización de becerros sanos de la especie Bovina en la prevención de infecciones y abortos causadas por *Brucella abortus*. Única elaborada a partir de cepas rugosas, vivas y estables, que inducen una sólida respuesta inmune protectora (MSD, 2012).

Permite un adecuado control diagnóstico. La vacunación con la cepa RB51, permite hacer diagnóstico a través de serología en animales sospechosos, sin falsos positivos, ya que las inmunoglobulinas generadas por vacunación, son distintas generadas por la enfermedad aguda (MSD, 2012).

### **2.11. Estrategia de prevención y control**

El programa Nacional de Control contra la brucelosis realizado en Ecuador por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) propone al país estrategias para prevenir el contagio en sus hatos ganaderos por la bacteria *Brucella abortus*.

- La vacunación con la vacuna Cepa 19 que será aplicada en terneras nacidas en la propiedad, una sola vez a la edad de 3-6 meses.
- La vigilancia epidemiológica mediante el diagnóstico serológico de los hatos.
- Eliminación de vacas positivas en camales autorizados.
- La compra de hembras de reemplazo se realizará únicamente cuando estas hayan sido vacunadas.

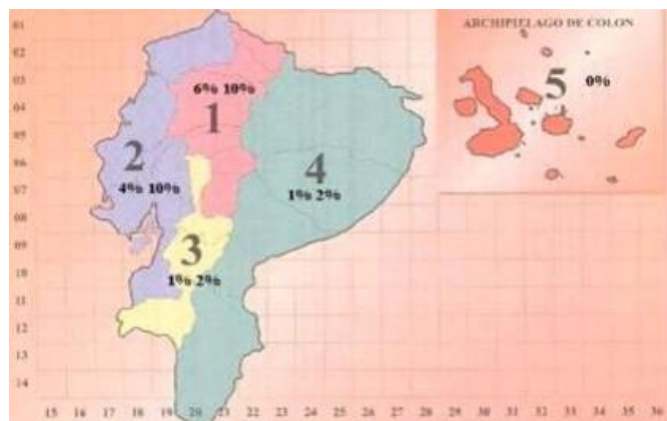
### **2.12. Distribución de la enfermedad en el Ecuador**

En el Ecuador el sector agropecuario representa el 17.5% del PIB. Mientras que un 27.3% aporta la actividad pecuaria que produce lácteos, carnes bovinas, porcinas, de pollo, y huevos.

Según el III Censo Agropecuario del 2000, Ecuador cuenta con 4'486.020 cabezas de bovinos (AGROCALIDAD, 2009).

En Ecuador, el país se ha dividido en regiones según la prevalencia de la enfermedad en la zona, resultando en cinco regiones epidemiológicas:

- **Región 1** (Alta prevalencia - Sierra): integrada por las provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo. Esta región presenta una prevalencia del 1.97-10.62%.
- **Región 2** (Alta prevalencia - Costa): integradas por las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, Los Ríos, El Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas. Esta región presenta una prevalencia de 4.2-10.62%.
- **Región 3** (Baja prevalencia): integrada por las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja. La prevalencia de la enfermedad en esta región es de 1.3-2.6%.
- **Región 4** (Baja prevalencia): integrada por las provincias amazónicas donde se estima una prevalencia baja de la enfermedad debido a los sistemas de producción.
- **Región 5** (Indemne): integrada por las Islas Galápagos. La prevalencia de la enfermedad se considera del 0% (AGROCALIDAD, 2009).



**Figura 2.** Regiones epidemiológicas de brucelosis bovina en Ecuador.

Fuente: (AGROCALIDAD, 2009)

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Ubicación del lugar de investigación

##### 3.1.1. Ubicación política

**País:** Ecuador

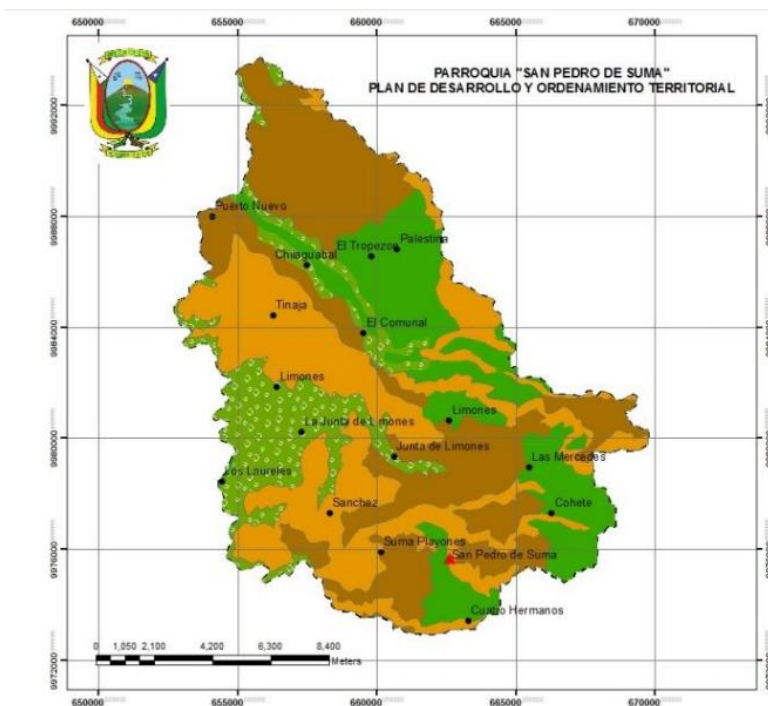
**Provincia:** Manabí

**Cantón:** El Carmen

**Parroquia:** San Pedro de Suma

**Comunidad:** Limones

##### 3.1.2. Ubicación geográfica



**Figura 3.** Ubicación de las comunidades del ensayo.

San Pedro de Suma es una Parroquia Rural Septentrional de Manabí es decir que la Parroquia San Pedro de Suma pertenece al Cantón El Carmen siendo la más joven se encuentra ubicada bajo la línea equinoccial que divide a la provincia y al país entre los hemisferios norte y sur.

**Coordenadas:** 0° 13' 3,344" S - 79° 32' 27,298" O

**Precipitación anual:** 2500 - 4000mm

**Humedad:** Alta humedad debido a la altitud

**Temperatura:** 24°C- 26° C.

**Clima:** Tropical Megatérmico Húmedo

### 3.2. Materiales

#### 3.2.1. Materiales de campo

- Encuestas
- Libro de Campo
- Cámara fotográfica
- Copa para vacutainer
- Caja refrigerante
- Agujas vacutainer
- Papel higiénico industrial
- Algodón.
- Marcador de aretes
- Guantes quirúrgicos
- Overol
- Botas
- Jeringas
- Alcohol
- Piola
- Aretes

### 3.2.2. Materiales de laboratorio

- Mandil
- Muestra de sangre
- Tubos de ensayo
- Tubos eppendorf
- Agua destilada
- Tips amarillas 0.20-100  $\mu$ l.
- Gradillas
- Micro-pipetas
- Cronómetro
- Puntas de pipeta desechables

### 3.2.3. Equipos

- Centrífuga
- Refrigeradora
- Aglutinoscopio
- Estufa
- Lector de ELISA
- Lavador de placas

### 3.2.4. Reactivos

#### 3.2.4.1. Reactivos para Rosa de Bengala

- Antígeno Rosa de Bengala 8% concentración celular
- Suero control positivo y negativo de Rosa de Bengala

#### 3.2.4.2. Reactivos para ELISA

- Microplacas sensibilizadas con el LPS de *Brucella* (12x8).
- Conjugado concentrado (10x).
- Control positivo
- Control negativo

- Diluyente 2
- Diluyente 3
- Solución de lavado concentrada (20X)
- Solución de revelación
- Solución de parada (0.5M)

### **3.2.5. Materiales de Oficina**

- Computadora
- Formularios oficiales(Encuestas)
- Esferográficos
- Resma de Papel
- Tinta de Impresora
- Lápiz
- Borrador
- Impresora

### **3.3. Método**

Para evaluar la prevalencia de brucelosis en el sector Limones se sociabilizó el proyecto ante la comunidad en donde se indicó la planificación del trabajo realizando un cronograma de visita a todas las personas ganaderas.

El procedimiento se realizó en dos fases como son la de campo y laboratorio.



### **3.3.1. Fase de campo**

#### **3.3.1.1. Encuestas Epidemiológicas**

Las encuestas epidemiológicas, se aplicó a las personas que están relacionados con el manejo Bovino.

#### **3.3.1.2. Toma de Muestras en Animales**

Se obtuvo muestras de sangre en tubos al vacío sin anticoagulante por punción a la vena coccígea en la tercera vertebra del animal, la muestra se identificó correctamente en el tubo y en la libreta de campo. En caso de aquellos animales que no tenían identificación se les colocó un collar con un número que se llevó al registro.

Las muestras fueron llevadas en refrigeración al laboratorio de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Extensión Santo Domingo, donde se ubicaron a la centrifuga para luego obtener el suero y colocar en tubos eppendorf de 1,5 ml. y posteriormente se llevaron al congelador.

El diagnóstico de Rosa de Bengala se llevó acabo en el laboratorio de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Extensión Santo Domingo.

Para el diagnóstico de la prueba de ELISA se realizó en el laboratorio de Investigación de Biotecnología Animal de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE – Sangolqui.

### **3.3.2. Fase de Laboratorio**

#### **3.3.2.1. Laboratorio**

Las muestras obtenidas se llevaron al laboratorio para ser analizadas.

#### **3.3.2.2. Prueba de Diagnóstico**

Una vez identificadas las muestras serológicas bovinas, se procedió a realizar las siguientes pruebas de diagnóstico:

### 3.3.2.3. Para la Prueba “Rosa de Bengala” (RB)

Las muestras de sangre se extrajeron en tubos al vacío sin anticoagulante mediante el método de punción en la vena coccígea. La muestra fue ubicada en un plano inclinado para aumentar la superficie de coagulación.

- Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas para obtener el suero.
- Los sueros y antígeno (Ag), fueron colocados a temperatura ambiente
- Se agregó sobre una placa de vidrio, 30 µl de:
  - Sueros controles
  - Sueros a investigar
- Se agregó una gota (30 µl) de antígeno
- Se mezcló, y se agitó por 4 minutos
- La lectura se realizó mediante la observación de aglutinación

### 3.3.2.4. Para la Prueba Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA indirecto)

Se colocó todos los reactivos del kit de ELISA a temperatura ambiente ( $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) antes de ser utilizados y se homogenizó por vortex o por inversión.

#### 1. Se Distribuyó

- 190 µl de **Diluyente 2** en cada pocillo.
- 10 µl de **Control negativo** en los pocillos A1 y B1
- 10 µl de **Control negativo** en los pocillos C1 y D1
- 10 µl de cada muestra o mezcla de 10 sueros a analizar en cada uno de los pocillos restantes.

#### 2. Se incubó **45 min** ( $\pm 4$ min) a $21^{\circ}\text{C}$ ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

3. Se lavó 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu$ l de **Solución de lavado**. Evitar el desecado de los pocillos entre los lavados.
4. Se preparó el **Conjugado 1X** diluyendo el **Conjugado concentrado 10X** al 1:10 (protocolo corto).
5. Se distribuyó 100  $\mu$ l del **Conjunto 1X** a todos los pocillos.
6. Incubar **30 min  $\pm$  3 min** a 21<sup>a</sup>C ( $\pm$ 5<sup>a</sup>C).
7. Se lavó 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu$ l de **Solución de lavado**. Evitar el desecado de los pocillos entre lavados.
8. Se distribuyó 100  $\mu$ l de **Solución de revelación** en cada pocillo.
9. Se incubó **15 min  $\pm$  2 min** a 21<sup>a</sup>C ( $\pm$ 5<sup>a</sup>C) en la oscuridad.
10. Se distribuyó 100  $\mu$ l de **Solución de parada** en cada pocillo para detener la reacción.
11. Se leyó los resultados a una densidad óptica de 450 nm (ID-vet, 2018).

#### **3.3.2.5. Para la recolección de datos de los factores de riesgo**

Mediante encuestas aplicadas a los propietarios de cada Finca (Anexo 1), se determinó los factores de riesgo, las mismas que buscan una asociación entre el factor de riesgo y la enfermedad (Brucelosis).

#### **3.3.3. Análisis Económico**

Una vez finalizado el proyecto de investigación se realizó el análisis económico determinando el costo que representa tener la enfermedad en sus animales en comparación con el costo que sería prevenir la enfermedad.

### 3.3.4. Variables medidas

#### 3.3.4.1. Realización de encuestas

Mediante la elaboración de encuestas epidemiológicas (Anexo 1) buscan una asociación entre los factores de riesgo y la enfermedad presente en los animales por medio de un estudio epidemiológico transversal y causal, ya que se determinará la prevalencia de la enfermedad de la zona estudiada.

#### 3.3.4.2. Validación e interpretación aplicados en ELISA indirecto

El test es válido si:

- ✓ El valor medio de la densidad óptica de los controles positivos ( $DO_{CP}$ ) es superior a 0.350.

$$DO_{cp} > 0.350$$

- ✓ El cociente entre la medida de los controles positivos ( $DO_{CP}$ ) y la media de los controles negativos ( $DO_{CN}$ ) es superior a 3.

$$DO_{CP} / DO_{CN} > 3$$

Para la interpretación de cada muestra, calcular el porcentaje S/P ( $S/P$ )%:

$$\frac{S}{P} \% = \frac{DO_{muestra} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Las muestras que presentan un S/P%

- Inferior o igual al 110% son consideradas como negativas
- Superior a 110% e inferior a 120% son consideradas como dudosas
- Superior o igual a 120% son consideradas como positivas.

**Tabla2.**

*Lectura de los resultados obtenidos en la prueba iELISA*

RESULTADO	ESTATUS
$S/P \leq 110\%$	NEGATIVO
$110\% < S/P\% < 120\%$	DUDOSO
$S/P\% \geq 120\%$	POSITIVO

Fuente: (ID-vet, 2018).

### 3.3.4.3. Prevalencia Animal

Para determinar la prevalencia de la enfermedad (Brucelosis Bovina) se obtuvo los resultados de las pruebas de diagnóstico ya mencionadas (Rosa de Bengala y ELISA indirecto). Cada animal fue considerado infectado en el caso que el resultado diera positivo (+) a la bacteria Brucella en ambas pruebas, y no infectados a los que salieron negativos (-) en ambas pruebas.

Fórmula:

$$P = \frac{(N+)}{T} * 100$$

En donde,

(P) = %Prevalencia

(N+) = Número de individuos positivos

(T)= Total de individuos analizados.

### 3.3.4.4. Fundamento teórico, cálculo e interpretación del coeficiente kappa ( $\kappa$ )

Según (Paredes, 2012), en el coeficiente kappa se refleja la concordancia inter-observador, y se calcula en tablas donde se contrasten dos observadores. El coeficiente kappa toma valores que van en un rango entre -1 y +1. Cuando más se acerca a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador, en cambio mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de  $\kappa = 0$  refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar.

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

**Figura 4.** Valoración del coeficiente Kappa.

Fuente:(Paredes, 2012).

### 3.3.4.5. Sensibilidad

Se refiere a la probabilidad de que un individuo enfermo genere un resultado positivo en la prueba de diagnóstico, es decir, es la capacidad de la prueba de detectar la enfermedad. Se la determina mediante la siguiente fórmula, donde VP corresponde al verdadero positivo y FN corresponde al falso negativo:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

El valor de la sensibilidad se expresa en porcentaje y varían desde 0 a 100. Si el valor obtenido es alto, significa que la prueba diagnóstica tiene la capacidad de detectar a los individuos enfermos (OIE, 2004).

### 3.3.4.6. Especificidad

Se refiere a la probabilidad que tiene la prueba de diagnóstico de identificar a los individuos sanos, es decir, es la capacidad de la prueba para dar a un individuo sano un resultado negativo. La especificidad se estima con la siguiente fórmula, donde VN son los verdaderos negativos y FP son los falsos positivos (OIE, 2004).

$$\textit{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la investigación realizada en Cantón el Carmen, la Parroquia San Pedro de Suma Sector Limones sobre el estudio epidemiológico de Brucelosis Bovina, se obtuvieron los siguientes resultados:

El manejo de los animales en el sector es tradicional, debido a que no realizan registros de sus animales, no efectúan ningún plan de vacunación para prevenir *Brucella abortus* razón de los resultados obtenidos

##### 4.1. Análisis descriptivo del resultado obtenido por medio de los exámenes serológicos

###### bovinos

Para todas las muestras bovinas se aplicó las dos pruebas serológicas utilizadas (Rosa de Bengala y ELISA indirecto).

###### Tabla3.

*Resultados obtenidos en el muestreo por hatos ganaderos*

Nº fincas	Animales Muestreados	Positivo RB	Positivo iElisa	TOTAL
1	26	2	2	2
2	22	3	3	3
3	12	0	0	0
4	8	0	0	0
5	16	0	0	0
6	23	0	0	0
7	16	0	0	0
8	7	0	0	0
9	17	0	0	0
10	5	0	0	0
11	19	1	0	0
12	109	25	28	28
13	20	0	0	0
TOTAL	300			33



En la tabla 3 se puede observar que de 300 animales muestreados, 33 animales resultaron como positivos (+) en las dos pruebas serológicas realizadas como fueron Rosa de Bengala (RB) y iELISA, el cual determinó una prevalencia de 11%.

Según Bahena (2003), El uso de la dosis clásica de Cepa 19 en animales no es recomendado debido a que estos permanecen positivos a las pruebas serológicas. En los predios que se realizó el muestreo no llevan registros de sus animales y no efectúan ningún plan de vacunación para prevenir *Brúcela abortus*, por lo que se confirma los resultados obtenidos ninguno puede ser un falso positivo.

#### 4.2. Comparación por resultados

##### Tabla4.

*Comparación de los resultados entre las pruebas serológicas Rosa de Bengala y Elisa indirecta por UPAS*

UPAS	RB	ELISA
1	+	+
2	+	+
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-
7	-	-
8	-	-
9	-	-
10	-	-
11	+	-
12	+	+
13	-	-

En la tabla 4 se observa que de las 13 UPAS muestreadas 3 de ellas arrojaron resultados positivos tanto para Rosa de Bengala y Elisa, confirmando la presencia de la enfermedad en estos predios, mientras que en una sola UPA un animal muestreado del total de animales dio como resultado positivo a Rosa de Bengala, pero negativo para Elisa indirecto, por lo que se descarta la presencia de la enfermedad en esta UPA debido a que como se menciona en el manual de la OIE (2014), la rosa de Bengala es una prueba eficiente pero muchas veces se pueden obtener resultados de falsos positivos o falsos negativos, en este caso se obtiene un falso positivo posiblemente por una prueba mal tomada en campo. Otro de los medios por lo cual se descarta la enfermedad es gracias a las encuestas realizadas sobre esta UPA, ya que no presenta signos clínicos que resulten sospechosos para la enfermedad.

#### 4.3. Comparación RB vs iELISA

**Tabla 5.**

*Resultado RB (Prueba Tamiz) y ELISA indirecta (Prueba confirmatoria) en el total de animales muestreados.*

Pruebas Diagnostico		
RB	i Elisa	TOTAL
25+	25+	25
6+	-	6
-	8+	8
-	-	261
31	33	300

De un total de 300 sueros analizados, 31 de ellos resultaron positivos para Rosa de Bengala, de los cuales 25 fueron confirmados con la prueba de Elisa indirecta.

Al realizar la prueba de iElisa se pudo detectar 2 animales positivos más, para esta prueba se obtuvo un total de 33 sueros analizados positivos.

(Ortiz & Acosta, 2014), mencionan que la Prueba Rosa de Bengala se basa en un proceso cualitativo de ejecución y observación rápida de macro aglutinación hecha en una sola dilución evidenciando principalmente anticuerpos IgG, uno de estos sueros pudo haber aglutinado de forma casi imperceptible al ojo humano, por lo cual al realizar la prueba de Elisa estos anticuerpos se pudieron detectar.

**Tabla 6.**

*Comparación de los resultados obtenidos por las pruebas Rosa de Bengala y iELISA, aplicadas a las muestras del sector limones en San Pedro de Suma para el diagnóstico de brucelosis bovina*

Rosa de bengala	iElisa		Total
	positivo	negativo	
positivo	25 (8,67%)	6 (2%)	31
negativo	8 (2.33%)	261 (87%)	269
Total	33	267	300

En el sector analizado se evidencio la falta de conocimiento sobre la enfermedad por parte de los productores ya que en su totalidad manifestaron no realizar cronogramas de vacunación contra *Brucella abortus*, ni llevar registros sobre sus animales.

De los resultados obtenidos se analizó la concordancia de cada prueba, la cual se analizó con el índice kappa dando un porcentaje de correlación de 95, 67% (Kappa =0,75) resultando considerable la concordancia existente entre ambas pruebas analizadas.

#### 4.4. Concordancia entre las pruebas diagnósticas Rosa de Bengala y Elisa indirecta

El índice Kappa se evaluó con la finalidad de medir el grado de concordancia entre las dos pruebas diagnóstico utilizadas para la enfermedad de *Brucella abortus* en el ganado bovino del sector Limones en San Pedro de Suma, provincia de Manabí

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

Po= proporción de acuerdos observados

Pe= proporción de acuerdos esperados o acuerdos por azar

$$K = \frac{0,95 - 0,80}{1 - 0,80} = 0,75$$

Dando un porcentaje de correlación de 95, 67% (Kappa =0,75) resultando considerable la concordancia existente entre ambas pruebas analizadas.

Esto debido a que para realizar ambas pruebas se utiliza el mismo suero sanguíneo extraído del animal vivo. Rosa de bengala replica en buena medida los resultados obtenidos con iElisa.

#### 4.5. Prevalencia aparente

La prevalencia aparente es inherente a los animales positivos identificados posteriormente a la aplicación de una prueba de diagnóstico, en este caso iElisa, esta prueba es mencionada por el manual de la OIE (2014) como una de las más sensibles aunque no es capaz de distinguir entre anticuerpos vacunales por cepa 19 y patógenas de *brucella abortus*. Pero en el sector estudiado al no realizar cronograma de vacunación para prevenir esta enfermedad la vuelve una prueba confiable y precisa

#### 4.5.1. Prevalencia aparente a nivel de UPA

$$P = (3/13) * 100 = 23.06 \%$$

#### 4.5.2. Prevalencia aparente a nivel de animales

$$P = (33/300) * 100 = 11\%$$

La prevalencia de brucelosis en ganado vacuno existente en San Pedro de Suma recinto Limones corresponde al 11 %, este valor se obtiene de los animales positivos a Elisa, además de la suma de los verdaderos positivos más falsos positivos.

La presencia de la enfermedad en este sector es muy alta. AGROCALIDAD (2009) menciona a la provincia de Manabí entre una de las que presentan alta prevalencia de entre 4,2% al 10,62%. En la actualidad aunque parezca imposible la realidad en sectores apartados como lo es el sector Limones no es diferente, esto debido al desconocimiento que tienen los moradores de este sector sobre la enfermedad y la importancia de prevenirla.

### 4.6. Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnosticas utilizadas

#### 4.6.1. Sensibilidad

Proporción de animales infectados que se sabe que dan resultado positivo en la prueba

$$Sensibilidad = \frac{25}{25 + 8} * 100 = 75\%$$

#### 4.6.2. Especificidad

La especificidad se analizó con el objetivo de conocer la proporción de animales sanos que se sabe presentaron resultados negativos en las pruebas OIE (2004)

$$\text{Especificidad} = \frac{261}{261 + 6} * 100 = 97\%$$

#### 4.7. Costo de descarte por animal

**Tabla 7.**

*Costos asociados a pérdidas económicas en los bovinos infectados por brucelosis.*

Bienes y servicios	Valor unitario \$	Cantidad	Total (USD)
1 litro de leche	0,55	5	2,75
Ganadería de carne	175,20	1	175,20
Días abiertos/día	6,30	150	945
Aborto (Inseminación artificial)	665	1	665
Servicios veterinarios	15	2	30
Medicamentos	21	1	21
Parámetros reproductivos	42	1	42
Manejo sanitario	70	1	70
Transporte de animales	70	1	70
Disposición final de cadáveres de animales	52,50	1	52,50

En la tabla 7 se calcula los parámetros reproductivos, en donde (Arenas & Moreno, 2016) nos indica que si una vaca que aborta, está perdiendo la inversión que se realizó durante la gestación, que es de aproximadamente \$ 2,80 dólares diarios; entonces, si la vaca está abortando en el séptimo mes, se está perdiendo \$ 588,50 por una ternero que no llego a nacer. Cuando la cría abortada es un macho se estaría perdiendo el valor del ternero, que puede ser alrededor de los \$ 24,50 si se trata de una ganadería lechera; si el caso fuera una ganadería de carne o doble propósito, el valor a perder es alrededor de \$ 175,20. En una ganadería lechera, si se aborta al ternero y este sería una hembra, esto ocasiona pérdidas que van en un rango de \$ 525 - \$ 700,60. Además, la vaca que aborta pierde la lactancia que son 210 días ò 7 meses, con una producción promedio de leche diaria de 5 litros (\$0,55 por litro), las pérdidas equivalen a un valor aproximado de \$577,50. Adicional, se debe incluir el valor productivo y genético del animal que resulta positivo en la prueba de ELISA. Es decir, un animal que sea positivo a brucella debe ser

enviado a la planta de sacrificio y lo pagarían por su peso, de acuerdo al precio de la carne establecido en el mercado en ese momento, el valor agregado que se le da animal por su genética y productividad en pérdidas oscila entre \$ 350,3 aproximadamente. Igualmente, un bovino que aborta por *Brucella abortus*, ocasiona problemas de infertilidad en un futuro, provocando de manera negativa los parámetros reproductivos que son: días abiertos, intervalo entre partos, porcentaje de preñez, natalidad, etc. Las pérdidas anteriormente mencionadas por promedio en cada vaca que aborta debido a la bacteria oscilan en \$ 2217 dólares (Tabla 8).

**Tabla 8.**

*Impacto económico de la brucelosis bovina en la producción ganadera.*

<b>Etapa productiva y/o producto</b>	<b>Costo diario (\$)</b>	<b>Periodo (meses)</b>	<b>Costo Total \$</b>
Gestación	2,80	7	588,50
Leche	0,55	7	577,50
Productos cárnicos			175,20
Aborto de la hembra			525,50
Potencial genético y productivo del animal			350,30
<b>Total</b>			<b>2217</b>

El costo por descarte de cada animal infectado por Brucelosis según la tabla 8 es de \$2217 dólares, por tanto, de los 33 animales infectados tenemos un costo total de \$73161 dólares en pérdidas por el descarte de los animales.

#### **4.8. Análisis descriptivo de los resultados de la encuesta sobre factores de riesgo.**

#### 4.8.1. Datos generales de la explotación

**Tabla 9.**

*Datos generales de la explotación*

<b>DATOS GENERALES</b>	
	Nº De Fincas
Explotación Intensiva	0
Explotación extensiva	13
Ganado de Carne	0
Ganado de Leche	0
Ganado Doble Propósito	13
Caninos	13
Equinos	13
Porcinos	9

En la tabla 9 se puede observar que de las 13 fincas muestreadas todas manejan un sistema de explotación extensiva, 11 fincas se dedican a la producción de ganado mixto y 2 a la producción de ganado de leche.

Según Chavez (2013), en la actualidad, se conocen siete especies de *Brucella: melitensis, abortus, suis, neotomae, ovis, canis* y *maris*, por tal razón se debe tener en cuenta que *Brucella* está presente en varios animales que tenemos dentro de las fincas como indica la tabla 9, de 13 fincas muestreadas las 13 poseen caninos, equinos y 9 fincas poseen porcinos.

#### 4.8.2. Sistema de reproducción

De las 13 fincas muestreadas todas utilizan como sistema reproductivo la monta natural. En la tabla 9 nos indica la procedencia del reproductor.



**Tabla10.**

*Procedencia del toro reproductor para el sistema reproductivo monta natural.*

Procedencia del Reproductor	
Propio	12
Vecino	1

Como se puede observar en la tabla 10 la procedencia del toro reproductor en las 12 fincas es propio, y solo una finca utiliza un toro prestado para la reproducción.

Según (Parada, 2004) nos dice que no hay pruebas concluyentes de que el toro transmita la bacteria en el momento del servicio, por lo tanto se podría decir que la reproducción por monta natural no transmite la bacteria *Brucella*.

#### **4.8.3. Presencia de abortos en la explotación**

De los 13 predios muestreados 3 presentan abortos.

**Tabla11.**

*Presencia de abortos*

Nº fincas	Aborta SI	Aborta NO
1		X
2	X	
3		X
4	X	
5		X
6		X
7		X
8		X
9		X
10		X
11	X	
12		X
13		X
TOTAL	3	10

La tabla 11 nos indica que de 13 hatos ganaderos muestreados 3 de estos notaron la presencia de aborto en sus bovinos, y 1 de ellos como es la finca N° 2 tiene presencia de animales infectados con *Brucella abortus*.

Según (Radostits, 2006), El aborto en vacas puede suceder por varios agentes causales, por lo tanto no se puede atribuir a *Brucella abortus* que sea la principal causa de abortos en los animales.

#### 4.8.4. Destino de los tejidos abortados

**Tabla12.**

*Destino de los tejidos abortados.*

Destino de los tejidos abortados	
Entierra	2
Incinerar	0
Bota a la basura	0
Ofrece como alimento a los animales	1

La tabla 12 nos indica que 2 predios lo entierran y en 1 predio lo ofrece como alimento a los animales.

Según Parada (2004), uno de los problemas por la diseminación de la enfermedad es la manipulación de los productos abortados, los pedazos de placenta o fetos abortados son trasladados de un lugar a otro y pueden ser vectores de la brucelosis.

#### 4.8.5. Vacunación de Brucelosis

En el lugar de estudio, como indica la tabla 13 ninguna finca muestreada realiza vacunación para prevenir brucelosis bovina.

**Tabla 13.**  
*Vacunación de Brucelosis*

Nº fincas	Vacuna SI	Vacuna NO
1		X
2		X
3		X
4		X
5		X
6		X
7		X
8		X
9		X
10		X
11		X
12		X
13		X
TOTAL	0	13

Según (Radostits, 2006) la única medida para la prevención de la enfermedad es la vacunación. Los animales vacunados con la cepa 19 tienen un alto grado de protección contra el aborto y el 65-75% son resistentes a la mayoría de los tipos de exposición. El restante 25-35% de los animales vacunados pueden infectarse, pero generalmente no abortan.

#### **4.8.6. Conocimiento sobre la enfermedad**

De las encuestas realizadas a los 13 predios, solo 1 persona tenía leves conocimientos sobre la enfermedad, sin embargo desconocía la forma de transmisión entre animales y la zoonosis. Los 12 predios restantes desconocían por completo la enfermedad y las consecuencias de tener animales infectados con brucella.

## 5. CONCLUSIONES

A través del estudio epidemiológico se pudo determinar la prevalencia de brucelosis bovina del 11%, lo que nos revela un valor significativo de riesgo latente para la Parroquia de San Pedro de Suma en el Sector Limones, y para la comunidad al ser una enfermedad zoonótica, que produce varios síntomas afectando a la salud humana. Es importante recalcar el desconocimiento de los productores acerca de la enfermedad y del contagio de la misma.

Se comprobó que existe un mayor riesgo de presentarse la enfermedad en hatos en donde la población animal es extensa y el sistema de producción que manejan es semi-extensiva, por lo que no realizan control sanitario, ni registros que facilite la información de cada animal. Lo que se corrobora los resultados obtenidos en la finca N° 12 en la cual se tomaron el mayor número de muestras del ensayo y fue la que mayor número de bovinos infectados por *Brucella abortus* se obtuvo.

La concordancia entre las pruebas serológicas Rosa de Bengala y Elisa indirecto se obtuvo aplicando el coeficiente kappa, que nos dio como resultado un 75% de correlación, demostrando que las pruebas empleadas se encuentran en un rango de 0,61-0,80 valorado como considerable dentro de la valoración aplicada por el coeficiente kappa, como indica en la figura 4, demostrando que los resultados obtenidos con RB replican en buena medida a los obtenidos por iElisa.

El costo por descarte de cada animal infectado es de un valor de \$ 2217 dólares, por los 33 animales positivos a brucella sería un costo total de \$ 73161 dólares de pérdidas para los productores dentro del Sector Limones.

## 6. RECOMENDACIONES

Concientizar a los productores y población en general sobre la importancia de la vacunación contra brucelosis bovina. Es indispensable que se realicen programas de capacitación e información de la enfermedad, para que se apliquen programas de vacunación y erradicación de la patología en los hatos ganaderos y a la vez en la comunidad por la zoonosis que representa esta enfermedad.

Se recomienda que en el caso que una persona sospeche que este contagiada por brucelosis y presente los síntomas que son fiebre continua, cefalea, sudoración profusa, artralgias, pérdida de peso y malestar generalizado con antecedente de estar en contacto con animales sospechosos o confirmados de brucelosis o haber consumido productos de origen animal contaminado como son carne, leche cruda, queso y yogurt sin pasteurizar, debe acercarse al Centro de Salud Pública en cualquier parte del Ecuador y realizarse el proceso de investigación descrito en el Sistema Integrado De Vigilancia Epidemiológica (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2014).

Para evitar la supervivencia de la bacteria *Brucella abortus* en la leche se debe realizar el proceso de pasteurización, el cual consiste en hervir la leche a una Temperatura entre 62 y 64 °C y mantenerla a esta temperatura durante 30 minutos, posteriormente enfriarla a 4 o 10 °C, esta pasteurización también se utiliza para realizar los derivados de la leche.

Inmunizar a los animales realizando un calendario de vacunación detallando edad, dosis, vía de administración y la vacuna empleada. Se recomienda vacunar con la cepa 19 como dosis única a las terneras sanas entre los 3 y 8 meses de edad o la cepa RB 51 administrada en hembras de 3 a 6 meses con revacunación a los 6 meses posteriores, una tercera inmunización a las novillas antes de servir a los 12 meses y de ahí en adelante una vez cada año.

Realizar seguimientos continuos a los hatos evaluados con el fin de llegar a erradicar la enfermedad en el Sector Limones de la Parroquia San Pedro de Suma, para evitar la diseminación de la enfermedad a otros lugares.

Al ser una enfermedad de declaración obligatoria se debe dar a conocer a las autoridades de las instituciones del MAGAP y AGROCALIDAD los lugares identificados con la presencia de *Brucella abortus*, para que exista capacitaciones sobre el control y erradicación de la enfermedad

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- AGROCALIDAD. (2008). Obtenido de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/sanidad-animal/02-control-zoosanitario/Resoluci%C3%B3n%202025.pdf>
- AGROCALIDAD. (2009). Obtenido de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/sanidad-animal/02-control-zoosanitario/Resoluci%C3%B3n%202025.pdf>
- Arenas, E., & Moreno, V. (2016). ESTUDIO ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN POR *Brucella abortus* EN GANADO BOVINO DE LA REGIÓN DEL SUMAPAZ, COLOMBIA. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 218 - 228.
- Bahena, A. A. (2003). Evauación serológica y bacteriológica de un hato bovino con brucelosis. *Téc Pecu : Mexico* .
- Carbonero, A., Guzmán, L., García, I., Borge, C., Adaszek, L., Arenas, A., & Saa, R. (2017). Seroprevalence and risk factors associated with *Brucella* seropositivity in dairy and mixed cattle herds from Ecuador. *Trop Anim Health Prod*, 2-3.
- Castro, H. A. (2005, 06). *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572005000200008](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000200008)
- Chavez, L. (2013, 02 22). Obtenido de <http://ganaderiaecuador.blogspot.com/>
- Diaz, A. (2013). Epidemiologia de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, y *Brucella abortus* en animales domesticos . *Sci. Tech*, 43-51.
- ESPAC. (2016). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria* . Obtenido de [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf)
- Espinosa, R. (2010). *Agrocalidad*. Obtenido de [http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa\\_nacional\\_brucelosis\\_bovina.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf)
- Garcia, Z. (2008, 01 22). Obtenido de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/enfermeria/tesis42.pdf>
- iastate. (2009). Obtenido de [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella\\_abortus-es.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_abortus-es.pdf)
- ID-vet. (2018). Obtenido de <https://www.id-vet.com/produit/id-screen-brucellosis-serum-indirect-multi-species/>
- Macías, G. (2003). Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Ántrax en. *Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo-Manabí*, 43-80.

- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2014, 05). Obtenido de <https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/MANUAL%20DE%20PROCEDIMIENTOS%2016%20de%20Octubre%20de%202014.pdf>
- Morera, M. O. (2005). Obtenido de <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf>
- MSD. (2012). *Animal Health*. Obtenido de [http://www.msd-salud-animal.com.ve/products/brucella\\_abortus\\_rb51/020\\_detalle\\_de\\_producto.aspx](http://www.msd-salud-animal.com.ve/products/brucella_abortus_rb51/020_detalle_de_producto.aspx)
- OIE. (1986). *Brucelosis bovina, ovina y caprina*. Obtenido de <http://www.oie.int/doc/ged/D8558.PDF>
- OIE. (2004). *Manual para las Pruebas de Diagnostico y de Las Vacunas para Animales Terrestres*. Paris: OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES.
- OIE. (2008). BRUCELOSIS BOVINA.
- OIE. (2013). *Brucelosis*. Obtenido de <http://www.oie.int/doc/ged/D13939.PDF>
- Ortiz, M., & Acosta, M. (2014). *SENASA*. Obtenido de [tps://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf](https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf)
- Parada, P. (2004). *Evaluación de Brucelosis bovina en el hato lechero*. Santa Cruz: Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno.
- Paredes, S. (2012). Determinar la prevalencia de Brucelosis Bovina y factores de riesgo en la Parroquia Alluriqui. *Repositorio ESPE*, 56.
- Radostits, O. (2006). *Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horse*. Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Elsevier.
- Rodríguez, R., Contreras, J., Benitez, W., Guerrero, K., Salcan, H., Minda, E., . . . Ron, L. (2015). Circulating strains of *Brucella abortus* in cattle in Santo Domingo de los Tsáchilas Province – Ecuador. *Frontiers*, 2-5.
- Rodriguez, Y., & Ramirez, W. (2005). Brucelosis bovina, aspectos historicos y epidemiologicos. *Veterinaria REDVET*, 1-9.
- Ron-Roman, J., Ron-Garrido, L., Abatih, E., Celi-Erazo, M., Calva-Pacheco, J., & Gonzalez-Andrad, P. (2014). Human Brucellosis in Northwest Ecuador: Typifying *Brucella* spp., Seroprevalence, and Associated Risk Factors. *VECTOR-BORNE AND ZOONOTIC DISEASES*, 3-4.
- Sanchez, J. B. (2000). Estudio Bacteriologico y Serologico de Brucelosis en Vacas Revacunadas con Cepa 19. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Mexico*, 35-42.



- SENASA. (2014). *Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria* . Obtenido de INFORME DEL MUESTREO PARA BRUCELOSIS EN ARGENTINA :  
[http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL\\_SENASA/ANIMAL/BOVINOS\\_BUBALINOS/PROD\\_PRIMARIA/SANIDAD/ENF\\_Y\\_ESTRAT/BRUCELOSIS/15\\_d-informe\\_final\\_muestreo\\_brucelosis\\_bovina\\_ano\\_2014\\_10-12-15.pdf](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y_ESTRAT/BRUCELOSIS/15_d-informe_final_muestreo_brucelosis_bovina_ano_2014_10-12-15.pdf)
- Torres, H., & Sandoval, P. (2009, febrero ). *AGROCALIDAD*. Obtenido de PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE BRUCELOSIS:  
[http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa\\_nacional\\_brucelosis\\_bovina.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf)
- Torres, H; Sandoval, P. (2008, febrero). *AGROCALIDAD*. Obtenido de PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE BRUCELOSIS:  
[http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa\\_nacional\\_brucelosis\\_bovina.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf)
- Vergara, D. (2006). Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a10.pdf>
- Vergara, D., Torres, M., & Gonzales, F. (2006). PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA LECHE CRUDA DE BOVINOS. *SCIELO* , 78-79. Obtenido de PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA LECHE CRUDA DE BOVINOS:  
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a10.pdf>
- Zambrano, M., & Pérez, M. (2015). Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la. *scielo*, 165-167. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/ras/v37n3/ras04315.pdf>