



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

INGENIERO AGROPECUARIO

Incidencia de Brucelosis Caprina (*Brucella Melitensis*) en hatos ganaderos de los Cantones (Isidro Ayora, Lomas De Sargentillo y Pedro Carbo), Provincia del Guayas

AUTOR:

RONALD GEOVANNY PALMA PACHECO

DIRECTOR

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2013



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

Incidencia de Brucelosis Caprina (*Brucella Melitensis*) en hatos ganaderos de los Cantones (Isidro Ayora, Lomas De Sargentillo y Pedro Carbo), Provincia del Guayas

TESIS DE GRADO

Presentada al Honorable Comité Técnico, Académico, Administrativo de la Unidad de Estudios a Distancia como requisito previo a la obtención del título de:
INGENIERO AGROPECUARIO

Aprobado:

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Ing. Lauden Rizzo Zamora. MSc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Marlene Medina Villacis. MSc **Ing. Geovanny Suarez Fernández. MSc**
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS **MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

Ing. Orly Fernando Cevallos Falquez, docente tutor de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Certifico: que el señor **RONALD GEOVANNY PALMA PACHECO**, realizó la tesis de grado titulada: **Incidencia de Brucelosis Caprina (*Brucella melitensis*) en hatos ganaderos de los Cantones (Isidro Ayora, Lomas De Sargentillo y Pedro Carbo), Provincia del Guayas**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con la disposición reglamentaria establecida para el efecto.

Ing. Orly Fernando Cevallos Falquez

DIRECTOR DE TESIS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **RONALD GEOVANNY PALMA PACHECO** declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

RONALD GEOVANNY PALMA PACHECO

DEDICATORIA

A Dios, mis padres y hermanos, mi esposa, mis hijos, Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarte cada día más. Por haberme educado y soportar mis errores. Gracias a sus consejos, por el amor que siempre me han brindado, por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad. ¡Gracias por darme la vida! ¡Te quiero mucho! Mi esposa por compartir todos los momentos de felicidad y tristeza juntos en la venidero y lo adverso, mis hijos motivo por el cual tengo las fuerzas y la entereza de superación a ellos y todos los que han participado conmigo dentro de mi desarrollo académico, para ellos les dedico estas palabras llenas de amor y satisfacción

RONALD GEOVANNY PALMA PACHECO

AGRADECIMIENTO

Dejo constancia de mi agradecimiento a:

Ing. Roque Vivas Moreira. Rector de La Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Ing. Guadalupe Murillo de Luna. Vicerrectora Administrativa.

Ing. MSc. Williams Burbano Montecé, Vicerrector Académico de la UTEQ, por su gestión académica.

Ec. MSc. Roger Yela Burgos MSc. Director de la Unidad de Estudios a Distancia, por su trabajo arduo y tesonero a favor de los estudiantes.

Ing. MSc. Lauden Geobakg Rizzo Zamora, Coordinador de la Carrera Agropecuaria, por su apoyo y motivación para la exitosa culminación de esta investigación de tesis.

Ing. Orly Cevallos Falquez Director de Tesis

Ing. Mercedes Carranza Patiño. Investigadora Laboratorio de Biotecnología.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron a la presente investigación.

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|-------------|
| PORTADA..... | i |
| APROBACION MIEMBRO DEL TRIBUNAL..... | ii |
| CERTIFICACIÓN..... | iii |
| DECLARACION DE AUTORIA Y CESION DE DERECHOS..... | iv |
| DEDICATORIA..... | v |
| AGRADECIMIENTO..... | vi |
| ÍNDICE..... | vii |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | x |
| INDICE DE FIGURAS..... | xi |
| RESUMEN EJECUTIVO..... | xii |
| SUMMARY..... | xiii |
| CAPÍTULO I..... | 1 |
| MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN..... | 1 |
| 1.1 Introducción..... | 2 |
| 1.2. Objetivos..... | 4 |
| 1.2.1. General..... | 4 |
| 1.2.2. Específicos..... | 4 |
| 1.3. Hipótesis..... | 4 |
| CAPÍTULO II..... | 5 |
| REVISIÓN DE LITERATURA..... | 5 |
| 2.1. Generalidades..... | 6 |
| 2.1.1. Brucelosis en cabras..... | 6 |
| 2.1.2. Historia de la Brucella spp..... | 6 |
| 2.1.3. Agente causal..... | 8 |
| 2.1.4. Patogénesis..... | 9 |
| 2.1.5. Diagnóstico..... | 10 |
| 2.1.5.1. Aislamiento..... | 11 |
| 2.1.5.2. Prueba de rosa de bengala..... | 11 |
| 2.1.6. La cabra en Ecuador..... | 12 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.6.1. Investigaciones realizadas en Ecuador..... | 13 |
| CAPÍTULO III..... | 15 |
| METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN | 15 |
| 3.1. Localización y duración del experimento | 16 |
| 3.1.1. Características edafoclimáticas de las zonas..... | 16 |
| Cantón Isidro Ayora | 16 |
| Cantón Lomas de Sargentillo | 17 |
| Cantón Pedro Carbo | 17 |
| 3.2. Materiales y equipos | 18 |
| 3.2.1. Material | 18 |
| 3.2.2. Equipos de Laboratorio | 19 |
| 3.3. Manejo del experimento..... | 19 |
| 3.3.1. Socialización del proyecto con los ganaderos..... | 19 |
| 3.3.2. Número de animales a muestrearse | 20 |
| 3.3.3. Recolección y análisis serológicos de las muestras de sangre..... | 20 |
| 3.3.3.1. Recolección de las muestras de | 20 |
| 3.3.3.2. Análisis serológico de las muestras de sangre | 20 |
| 3.3.3. 2.1.Técnica | 20 |
| 3.3.4. Análisis e interpretación de los resultados | 21 |
| 3.3.4.1. Prevalencia de brucelosis caprina..... | 21 |
| 3.3.4. 2. Zonas de mayores prevalencias | 22 |
| 3.3.4. 3. Determinación de las pérdidas económicas..... | 22 |
| 3.3.5. Métodos de análisis estadísticos..... | 22 |
| CAPÍTULO IV | 25 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 25 |
| CAPÍTULO V | 36 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 37 |
| CAPÍTULO VI..... | 39 |
| BIBLIOGRAFIA | 40 |
| CAPÍTULO VII..... | 47 |
| ANEXOS..... | 48 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Pág. |
|--------|--|------|
| 1 | Resultados y porcentajes de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas | 26 |
| 2 | Evaluación de los casos positivos de Brucelosis Caprina, mediante la prueba no paramétrica para una sola muestra, prueba de chi cuadrado, para el sexo, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas | 28 |
| 3 | Procedencias de los animales positivos y negativos a brucelosis en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas | 31 |
| 4 | Evaluación de los casos positivos de Brucelosis Bovina, mediante la prueba no paramétrica para una sola muestra, prueba de chi cuadrado, para su lugar de procedencia en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas | 31 |
| 5 | Estimación de la pérdida económica causada por el aborto producido en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas. | 34 |

INDICE DE FIGURAS

| Figura | | Pág. |
|---------------|--|-------------|
| 1 | Número de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala en en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas. 2013 | 27 |
| 2 | Resultados y porcentajes de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, según el sexo | 29 |
| 3 | Procedencias de los animales positivos y negativos a brucelosis en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas. | 32 |

RESUMEN EJECUTIVO

El presente trabajo de investigación sobre brucelosis caprina se efectuó en tres cantones de la provincia del Guayas; como objetivo general fue Determinar la prevalencia de brucelosis caprina en hatos ganaderos de los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), provincia del Guayas. Durante el desarrollo de la investigación se recolectaron 300 muestras de suero sanguíneo, correspondientes a los tres cantones; las mismas que fueron analizadas en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo para la cual se utilizó la prueba de Rosa de Bengala; los resultados de la prevalencia de brucelosis fue un 12.86% (38 casos positivos); en cuanto a la prevalencia de brucelosis caprina de acuerdo a la procedencia se estableció que los tres cantones presentaron el 2,33 % Isidro Ayora, seguido del cantón Lomas de Sargentillo 4.33% luego del cantón Pedro Carbo 6% respectivamente. En cuanto al sexo, se recolectaron 288 muestras serológicas de hembras de las cuales 254 resultaron negativas y 34 resultaron positivas a brucelosis caprina lo que equivale al 11.80%; para el caso de los machos se recolectaron 12 muestras serológicas resultando negativas 8 muestras y 4 reflejaron positivas a brucelosis caprina lo que equivale a un 0,86%. Se determinó que las pérdidas económicas producidas en cabras enfermas es por aborto de 530. La seroprevalencia y distribución de la brucelosis caprina en los tres cantones seleccionados es baja y que la explotación en sistemas intensivos constituye un riesgo para la infección, así como la vacunación contra brucelosis induciría a poder erradicar esta enfermedad y la prueba rosa de bengala se constituye una herramienta útil para el diagnóstico.

Palabras claves: Rosa de bengala, *Brucella melitensis*, y brucelosis.

SUMMARY

The present research work on caprine brucellosis was carried out in three cantons of Guayas province; as a general objective was to determine the prevalence of caprine brucellosis in cattle herds of the cantons (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo and Pedro Carbo), province of Guayas. During the development of the research were collected 300 samples of blood serum, corresponding to the three cantons; the same ones that were analyzed at the laboratory of biotechnology of the State Technical University of Quevedo which was the rose Bengal test; the results of the prevalence of brucellosis was a 12.86% (38 positive cases); in terms of the prevalence of caprine brucellosis according to the provenance was established that the three cantons had the 2.33% Isidro Ayora, followed by canton Lomas de Sargentillo 4.33% after the canton Pedro Carbo 6% respectively. 288 Samples were collected in sex, serological females of which 254 were negative and 34 tested positive to caprine brucellosis which equals the 11.80%; 12 samples serological resulting negative 8 samples were collected in the case of males and 4 reflect positive with caprine brucellosis which is equivalent to 0.86%. It was determined that produced in diseased goats economic losses is of abortion is 530. It is concluded that the prevalence and distribution of caprine brucellosis in the three selected cantons is low and exploitation in intensive systems constitutes a risk for the infection, as well as vaccination against brucellosis would be able to eradicate this disease and rose Bengal test constitutes a useful tool for the diagnosis.

Key words: Rose Bengal, *Brucella melitensis*, and brucelosi

CAPÍTULO I.

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Introducción

Las especies domésticas afectadas por *Brucella* incluyen, entre otras, los bovinos y los pequeños rumiantes, en relación con la brucelosis caprina hay que señalar que ha recibido poca atención, sin embargo, la economía de muchas zonas áridas o semi-áridas depende en gran medida de estos animales.

Hay que tener en cuenta, además, que la brucelosis humana está causada sobre todo por *B.melitensis* y que el ganado caprino es el huésped preferente de esta especie. La brucelosis es sin duda, después de la erradicación de la fiebre aftosa, la que mayores pérdidas produce en la ganadería (Orduña *et al.*, 2001).

La brucelosis es una enfermedad infecto - contagiosa ocasionada por una bacteria; tiene la característica de zoonosis, puesto que es transmitida desde los animales al ser humano y viceversa. Por esto la eliminación del riesgo brucélico para el hombre pasa por la eliminación de la única fuente de contaminación; la brucelosis animal. (Segovia *et al.*, 2000).

El agente causal en diversas especies pertenece al género *Brucella*. En los pequeños rumiantes, fundamentalmente en la especie caprina; la enfermedad se debe a *Brucella melitensis* (biovars 1, 2 y 3) y con menos frecuencia se debe a *Brucella abortus* (Adams 1997).

La producción caprina se lleva a cabo en nuestro país en zonas áridas y marginales, generalmente por pequeños productores que carecen de recursos y de apoyo productivo sanitario. A escala nacional se estima que Ecuador posee 130,091 cabras, según el Ministerio de Agricultura y Ganadería. En el país no hay datos de estudios previos de prevalencia de la enfermedad (Bárbara, 2002)

El litoral ecuatoriano, se caracteriza por tener una población caprina agrupada en puestos, que se trasladan de un lugar a otro con sus cuidadores de acuerdo a la época del año, dado que es una zona con clima

muy riguroso y un relieve que no permite los asentamientos permanentes. A causa de este tipo de producción los vendedores conviven estrechamente con las cabras y los productos y subproductos de las mismas se comercializan en cada provincia que conforma el Litoral Ecuatoriano, siendo un punto importante de la economía local. Además, la enfermedad incide directamente en la productividad animal, al ocasionar pérdidas económicas por abortos en las cabras y mermas de hasta 25% de la producción de leche. No obstante, los esfuerzos por instituir medidas de control y erradicación, la brucelosis es todavía un problema importante para la salud y la economía del país (SESA, 2002).

La sintomatología que la brucelosis provoca en los caprinos puede no llegar a ser del todo clara, por lo que el diagnóstico definitivo debe hacerse mediante pruebas de laboratorio. El diagnóstico puede realizarse mediante varias pruebas: aglutinación en placa con antígeno Rosa de Bengala (RB) y con antígeno bufferado (BPA), aglutinación en tubo con 2 mercaptoetanol (2-ME), cultivo bacteriológico con aislamiento e identificación, ELISA. (Díaz Aparicio et al., 1994).

Las prácticas habituales de manejo de las cabras; préstamo de sementales, pastoreo de rebaños en lugares comunes, reposición con animales de otros rebaños, facilitan la diseminación de la enfermedad. Las vías de contagio son múltiples y no muy conocidas. Sin embargo, la mayor cantidad de los animales se infectan a través de las vías oral y respiratoria, bien por ingestión de materias contaminadas o bien por inhalación del polvo de los establos.

Por estas razones, el presente estudio epidemiológico busca estimar la prevalencia de la brucelosis caprina en la provincia del Guayas con el propósito de conocer el comportamiento de la enfermedad en el país, y de esta manera apoyar la toma de decisiones, dentro de lo que pueden ser medidas zoonosanitarias pertinentes.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

- Determinar la prevalencia de brucelosis caprina en hatos ganaderos de los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), provincia del Guayas

1.2.2. Específicos

- Medir a través de la prueba Rosa de Bengala, la seroprevalencia de brucelosis en sangre en la población de cabras de los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas
- Analizar la sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala.
- Determinar el costo de la prueba serológica por animal

1.3. Hipótesis

- En el estudio encontraremos 25% de animales seropositivos a brucelosis en la cabra en los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), de la Provincia del Guayas, tomando como herramienta diagnóstica la prueba Rosa de Bengala y teniendo en cuenta el origen común de los animales en la zona y la relación estrecha con otras especies susceptibles.”
- En el estudio no encontraremos animales seropositivos a brucelosis en la cabra en los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, tomando como herramienta diagnóstica la prueba Rosa de Bengala y teniendo en cuenta el origen común de los animales en la zona y la relación estrecha con otras especies susceptibles.”

CAPÍTULO II.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

2.1.1. Brucelosis en cabras

La brucelosis caprina, se considera una enfermedad re-emergente desde que fue descubierta por el doctor David Bruce. La brucelosis es causada principalmente *por Brucella melitensis spp* y de manera accidental por *Brucella ovis spp*, generando abortos, disminución en la productividad y pérdida en la comercialización del producto final como carne y leche. Los lugares húmedos y hacinados son favorables para su crecimiento.

Es responsable del 70% de los abortos en apriscos sin exposición o vacunación previa, a diferencia de los apriscos donde la enfermedad es enzoótica con un porcentaje de muerte fetal menor al 30%. Su transmisión y prevalencia dependen de factores como, hábitos alimenticios, procesamiento de productos lácteos, hábitos culturales, condiciones climáticas y estado socioeconómico (Roble et al; 1999 y Mantur, 2008).

2.1.2. Historia de la *Brucella spp*

La brucelosis fue denominada inicialmente “fiebre ondulante” debido a que la temperatura de los humanos enfermos ascendía en horas de la tarde desde los niveles normales (36.5 – 37.5) hasta superar los 40°C. Durante los siglos XIII y XVII la enfermedad recibió el nombre de Fiebre del Mediterráneo o Fiebre de Malta ya que en este tiempo se registraron gran cantidad de informes en toda la zona mediterránea. En 1810, un médico de la Armada Británica; William Burnett, fue el primero en diferenciar varios tipos de fiebre que afectaban a los marinos residentes en el Mediterráneo (Rodríguez et al; 2005, Rodríguez et al; 2001, Sbriglio et al; 2007 y Davis, 2004).

El microorganismo causante de la enfermedad fue descubierto el 9 de julio de 1887 por el doctor David Bruce, médico de la Armada británica; aislando el

patógeno procedente del bazo de un soldado británico, denominándolo *Micrococcus melitensis*. Bruce halló que la bacteria se desarrollaba mejor en altas temperaturas y de esta manera especuló que este hecho podría explicar el incremento de casos durante los meses de verano, además identificó la cabra como principal reservorio de la infección, ya que, pudo observar el microorganismo en sangre, orina y leche de esta especie (Rodríguez et al; 2005, Rodríguez et al; 2001, Sbriglio et al; 2007 y Davis, 2004).

En 1895, un médico patólogo veterinario y bacteriólogo dinamarqués, Bernhard Bang, descubrió el microorganismo responsable de los casos de abortos que afectaba al ganado vacuno, llamándolo *Bacterius abortus*, que afectaba además, caballos, ovejas y cabras. Por tal razón, la enfermedad se denomina “Enfermedad de Bang” (Mantur, 2008, Rodríguez et al; 2005)

Otros importantes científicos destacados en el descubrimiento del género *Brucella* spp, fueron Buddle y Boyce (*B. ovis*), Stoenner y Lackman, aislaron *B. neotomae* de una rata, y Carmicheal y Bruner, quienes hallaron la *B. canis* procedente de caninos (Mantur, 2008, Rodríguez et al; 2005, Rodríguez et al; 2001, Sbriglio et al; 2007 y Davis, 2004).

La relación entre la Enfermedad de Bang (*Bacterius abortus*) y la Enfermedad de Malta (*Brucella melitensis*), fue descubierta en 1920 por la bacterióloga estadounidense Alice Evans, debido a que la morfología del microorganismo y la patología que provocaban ambas enfermedades eran muy similares. Con el transcurso del tiempo quedó establecido el nombre de *Brucella* spp. (1920 Karl F. Meyer), para denominar a los organismos que provocan la fiebre en honor al doctor David Bruce (Rodríguez et al; 2005, Rodríguez et al; 2001 y Sbriglio et al; 2007).

2.1.3. Agente Causal

La bacteria *Brucella* spp es un cocobacilo, aeróbico, inmóvil, y no resistente al ácido. Otras características de este género son la falta de capsula, esporas, Gram negativo y con cromosomas circulares que infecta en forma primaria a los animales y perteneciente a la familia Brucella.

La *Brucella* spp., tiene la capacidad de multiplicarse y sobrevivir dentro de los macrófagos por largo tiempo. Una vez se encuentra en el interior de la célula, es capaz de inhibir la fusión del fagosoma con el lisosoma mediante la acidificación del medio sintetizando enzimas oxidantes y produciendo GMP (guanosina 5´monofosfato) y adenina. Esto permite que la bacteria resista la inmunidad intracelular. El aumento de la temperatura o choques de calor inicia una síntesis de proteínas que potencializa su patogenicia (Fátima y Garrido 2002 y Castro et al; 2005).

Las cepas se clasifican según su morfología en lisas (S) y rugosas (R) y por la presencia de lipopolisacárido (LPS), los cuales brindan resistencia y regula la respuesta inmune del huésped. Las cepas S, por ejemplo la *B. abortus*, *B. suis*, *B. Melitensis* y *B. neotomae*, tienen mayor virulencia en las especies mamíferas. Las cepas R, por ejemplo *B. ovis*, *B. canis* y *B. maris* son patógenos leves (Mantur, 2008, Rodríguez et al; 2001 y Sbriglio et al; 2007).

La *Brucella melitensis* contiene tres biovars, definidos según requerimiento de CO₂ complementario, producción de ácido sulfhídrico y crecimiento en presencia de tionina y fucsina básica. Los tres causan la enfermedad en pequeños rumiantes, pero varía en cuanto a la localización geográfica; es decir, el biovar 1 se ubica en América Central, biovar 2 en África y biovar 3 es predominante del Mediterráneo y Medio este (Rodríguez et al; 2001 y Gutiérrez et al; 2005).

2.1.4. Patogénesis

La brucelosis se transmite por contacto placentario, óbitos, fluido fetal, descarga vaginal, mucosa digestiva, nasal, conjuntival o abrasiones en piel. La leche, también se considera fuente de infección, ya que la ubre es el sitio predilecto para que se localice la *Brucella spp.*, especialmente en los nódulos linfáticos supramamarios. Con el semen ocurre algo similar ya que la bacteria se encuentra en el epidídimo provocando una inflamación infecciosa del tejido. (Sbriglio et al; 2007, Mobini, 2002, Gutiérrez et al; 2005 y Fátima y Garrido 2002).

Al entrar en el organismo, la respuesta inmune es capaz de fagocitar algunas bacterias. La respuesta inmune innata es la primera línea de protección en contra de la *Brucella spp.* Los macrófagos de manera inicial no pueden destruir la *Brucella spp.* pero adquieren la capacidad de lisarla en un periodo de 10 días. Algunos autores han reportado actividad macrófaga dentro de las primeras 48 a 72 horas. Estas células se activan por interacción del receptor CD14 (cluster differentiation) y el LPS. Esta interacción produce IL-12 la cual estimula las células asesinas naturales (NK) y los linfocitos T colaboradores (CD4+) que secretan Interferon Gama (INF-g), Interleuquina 2 (IL-2), IL-3, IL-6, IL-12 y Factor de Necrosis Tumoral (TNF) (Gutiérrez et al; 2005, Castro et al; 2005 y Arestegui et al ; 2001.).

El complemento se activa por la vía clásica en presencia de concentraciones bajas de IgM e IgG anti-*Brucella*, ocasionando lisis bacteriana. Se ha observado que en animales vacunados la respuesta aparece entre los 13 hasta los 90 días. En cuanto a los neutrófilos, se debe generar una degranulación para liberar mieloperoxidasa y provocar la muerte intracelular bacteriana. La bacteria puede inhibir este proceso ya que es capaz de sobrevivir intracelularmente. Los primeros anticuerpos formados son IgM, IgG e IgA (Gutiérrez et al; 2005, Castro et al; 2005 y Arestegui et al; 2001.).

Las que no son fagocitadas son transportadas a los nódulos linfáticos causando hiperplasia reticuloendotelial. Por medio de su LPS se fija a un receptor de manosa o integrina hasta que se ubica en el interior de las vacuolas donde se replica afectando órganos como el riñón, hígado, bazo,

tejido mamario y articulaciones (Fátima y Garrido 2002y Arestegui et al ; 2001.).

En pequeños rumiantes las infecciones se diseminan fácilmente después de la ocurrencia de algún aborto o un parto a término. Usualmente en cabras, la liberación de *B. melitensis* en descargas vaginales ocurre alrededor de los 2 a 3 meses, a diferencia de las ovejas que se encuentra en la tercera semana posterior al parto y en vacas a los 39 días después de ocurrido el aborto.

La *Brucella melitensis* y en general cualquier género de *Brucella* spp, puede ser viable por varios meses en agua, fetos abortados, estiércol, lana, condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y poca luz. Así mismo, resisten a la desecación en presencia de materia orgánica, polvo y bajas temperaturas.

2.1.5. Diagnóstico.

La presencia de la *Brucella melitensis* puede ser determinada mediante pruebas serológicas, estudios post mortem y signos clínicos. Según la Organización Mundial de la Salud Animal (OPS) los métodos más utilizados para la identificación de *Brucella* spp en cabras son Rosa de Bengala y Fijación de Complemento (Mantur y Amarnathe 2008).

Las pruebas serológicas no son específicos ya que existen reacciones cruzadas entre la *B. melitensis* y bacterias como: la *Yersinia enterocolitica* O: 9, *Escherichia coli* O: 157, *Salmonella* O: 30, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Vibrio cholerae* O: 1. La *B. melitensis* se identifica por el biovar, la tipificación de fagos y cultivo, además de las características bioquímicas y serológicas. La inoculación animal es poco usada para aislamiento, pero a su vez puede ser una técnica efectiva cuando han fallado las otras opciones. La reacción en cadena por la polimerasa (PCR) está disponible, pero es de alto costo la cual solo se utiliza como última instancia en zonas de escasos recursos (Mantur y Amarnathe 2008).

Las cepas más utilizadas en laboratorio son las que se encuentran en fase S (cepas lisas), específicamente, *B. abortus* 1119-3 ó 99S y van a servir como

antígenos para detectar la presencia de *Brucella* spp. Esta cepa, detecta anticuerpos contra *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*, pero no para *B. canis* ni *B. ovis*, ya que estas necesitan cepas R. (Arestegui et al; 2001).

2.1.5.1. Aislamiento

Existen varias técnicas de aislamiento bacteriano, entre ellas se encuentra la inoculación de sangre en frascos herméticamente cerrados con un medio líquido (caldo triptosa) y un medio sólido (agar triptosa) durante 30 días, debido a que la *Brucella* spp., es de crecimiento lento. Otra manera de aislar es mediante el medio de Farrel o Thayer-Martin modificado. Este medio consta de un agar de suero-dextrosa complementado con bacitracina, cicloheximida, ácido nalidíxico, nistatina, polimixina B y vancomicina. Las colonias de *Brucella* spp. Usualmente empiezan a ser visibles después de dos días de crecimiento a una temperatura de 20-40°C (37°C). Estas colonias son pequeñas con una longitud que varía entre 0.6 a 1.5 micrones, con bordes lisos y traslúcidos. Si estas aparentan ser del género *Brucella* spp., se procede a colocar una gota de solución salina sobre un porta objeto, adicionando 30µl de suero policlonal anti-*Brucella* en fase lisa, observando si hay aglutinación. Este estudio se puede complementar con suero anti- *Brucella* R. En esto, también influye la capacidad de ser catalasa, ureasa y oxidasa positiva, al igual de no fermentar glucosa ni lactosa (Gutiérrez et al; 2005, Castro et al; 2005 y Arestegui et al; 2001.).

2.1.5.2. Prueba de rosa de bengala

Se usa principalmente en caprinos, pues se considera una prueba sensible (95%) pero con baja especificidad (75%). Esta prueba se considera tamiz. Es necesario tres reactivos que son *B. abortus* 1119-3, suero control positivo (0.01% ácido de sodio) y suero control negativo (0.01% ácido de sodio). Se coloca en contacto una alícuota del suero (30µL) con 30µL de antígeno *B. abortus* 1119-3 al 8.5%, ajustada a un pH ácido y un colorante Rosa de Bengala (Arestegui et al; 2001).

Tanto el reactivo como el suero control mantenerse a temperatura ambiente de 22°C, una vez se encuentran a esta temperatura, se agita el antígeno

suavemente para asegurar una suspensión uniforme. Luego se coloca en la muestra de 30 a 40µL en una parte de la diapositiva, de igual manera de 30 a 40µL del suero con el antígeno Rosa de Bengala. Se continúa con el mismo proceso por cinco minutos, usando controles positivos y negativos en el lugar de la muestra y se agita suavemente durante dos minutos, realizando de 10 a 12 movimientos/minuto. Al cabo de cuatro minutos se procede a la lectura, observando la presencia o no aglutinación, que indicará un resultado positivo o negativo respectivamente. En el caso de que se haya presentado aglutinación los anticuerpos presentes serán de tipo IgM, IgG e IgA. (Lucero y Bolpe 1998).

2.1.6. La cabra en Ecuador

Es el resultado de cientos de años de crianza descontrolada y selección natural, principalmente en la zona norte del país, caracterizada por su baja pluviometría. Tiene su origen en razas españolas traídas en tiempo de la conquista. Destaca su rusticidad y adaptabilidad a los más variados lugares y climas, además de su gran capacidad para caminar. Es probable que sus necesidades de agua sean menores que razas exóticas y que tenga mayor resistencia al calor. Presenta una mayor resistencia a enfermedades y puede utilizar una amplia variedad de forrajes y alimentos. Existe una gran diversidad en cuanto a su tamaño, color, forma y productividad (Contreras *et al.*, 2005).

Las provincias de Manabí y Loja son las mayores productoras de caprinos en Ecuador (ver gráfico). Jaime Erazo, técnico de la industria de lácteos Mondel, asegura que la mayoría de cabras que se crían en el país está destinada a la producción de carne. Mientras que la producción de leche se ha concentrado en Imbabura, Carchi y Pichincha, principalmente..

2.1.6.1. Investigaciones realizadas en Ecuador.

En estudio se determinó el porcentaje de brucelosis en Ovino y Caprino, en hatos con prevalencia histórica y también la sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala (RB). Para determinar el grado de prevalencia de la

brucelosis, se muestrearon un total de 452 ovinos en los cantones de Balzar y Quevedo, 319 y 133 respectivamente.

En el cantón Quevedo también se muestrearon 25 caprino. En Balzar, se alcanzó el mayor grado de positivismo, de 125 (39,2 %); 122 (38,2) negativo y 72 (22,6) sospechosos casos, no así en el cantón Quevedo que fue de 18 (13,5 %) de positivo; 102 (76.7%) y 13 (9.8 %) sospechosos, además en este cantón hubieran seis casos en cabras es decir el (24 %) lo que indica un positivismo de 24 animales por cada 100 caprinos, 16 (64%) negativo y 3 (12%) sospechosos. La prueba Rosa de Bengala reveló una (sensibilidad 68.8% y especificidad 73.2%).

Los resultados muestran que la detección de los animales positivos mediante la prueba de Rosa de Bengala fue específicas y sensibles, por lo tanto la prueba puede ser una herramienta muy útil en el diagnóstico de *Brucella ovis* y *melitensis* y en el programa de erradicación. Persiste el riesgo de Brucelosis humana en Balzar y Quevedo ante la presencia de ganado ovino y caprino infectado con dicho mal (Monserate, C y Zamora, F. 2011)

Vera (2013), realizó una investigación en bovino en la provincia Santo Domingo donde analizó un total de 400 muestras de sangre que fueron recolectadas en 43 hatos en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas con una alta tasa de prevalencia histórica de brucelosis. Un promedio del 29% dio positivo para el análisis de RB, mientras tanto que con PCR fue del 25% , en cuanto a la prevalencia de brucelosis bovina de acuerdo a la procedencia prevalencia de brucelosis bovina según su procedencia es la siguiente; la parroquias de Valle Hermoso y Alluriquin con 1% casos positivos en cada zona; El Esfuerzo, y Santa María del Toachi con 1.5% caso en cada sector, Luz América con 2% caso; La Concordia con 3% casos positivos, Puerto Limón 9% casos positivos y San Jacinto del Búa 10% casos. El análisis mediante la Prueba No Paramétrica de χ^2 determinó significancia estadística ($P \leq 0.05$). Las muestras positivas amplificaron un fragmento de 725pb.

Arias (2013), determino el grado de prevalencia de la brucelosis en la provincia de Manabí donde se muestrearon un total de 334 bovinos (167 criollo y 167

europeo), se alcanzó un positivismo, de 19 (11.37 %); 148 (88.63%) negativo, no así en la raza europea que fue de 30 (17.96 %) de positivo; 137 (82.04%) negativos. La prueba Rosa de Bengala reveló una (sensibilidad 14.63% y especificidad 85.37%). Los resultados muestran que la detección de los animales positivos mediante la prueba de Rosa de Bengala fue específicas y sensibles, por lo tanto la prueba puede ser una herramienta muy útil en el diagnóstico de *Brucella abortus* y en el programa de erradicación. Persiste el riesgo de Brucelosis humana en toda la provincia ante la presencia de ganado bovino infectado con dicha enfermedad y si no se toma las medidas puede contagiarse al consumir leche y producto lácteo mal pausterizado. Por último se analizó las pérdidas económicas por vaca que aborta la cual fue de \$ 520.

CAPÍTULO III.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización y duración del experimento.

La presente investigación se realizó utilizando el ganado caprino que está localizado en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas y se tomó 5cc de sangre por individuos adultos que dan un total de 300 animales (machos y hembra). Esta investigación tuvo una duración de cuatro meses

3.1.1. Características edafoclimáticas de las zonas

Cantón Isidro Ayora

Ubicación Geográfica

Latitud Sur: 01° 50' 98"

Latitud oeste: 80° 15' 97"

Altitud: 84 msnm.

Precipitación: 1200 mm

Temperatura: 25°C a 25 °C

Características del suelo

Topografía Plana: 47 %

Topografía Ondulada 50 %

Topografía Quebrada: 13 %

Tipo de suelo: Franco - arcilloso

PH: 6.5 a 7.0

Cantón Lomas de Sargentillo

Ubicación Geográfica

Latitud Sur: 1° 30' S

Latitud oeste: 1° 12' O

Altitud: 20 msnm

Precipitación: 1500 mm

Temperatura: 24° C - 32° C

Humedad relativa. % 85.5

Características del suelo

Topografía Plana: 24%

Topografía Ondulada: 40%

Topografía Quebrada: 36%

Tipo de suelo: Franco arenoso

pH: 5.5 a 6.5

Cantón Pedro Carbo

Ubicación Geográfica

Latitud Sur: 1° 43' 07"

Latitud oeste: 80° 20' 09"

Altitud: 50 msnm

Precipitación: 1192 mm

Temperatura: 25° C - 30° C

Humedad relativa. % 76

Características del suelo

Topografía Plana: 46%

Topografía Ondulada: 36%

Topografía Quebrada: 18%

Tipo de suelo: Franco arcilloso

pH: 5.5 a 6.5

Fuente: Datos tomado de los Anuario de UNIAGRO UTEQ

3.2. Materiales y equipos.

3.2.1. Material

Como material se utilizó ganado caprino proveniente los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas

De campo

| Materiales | Cantidad |
|---|----------|
| ▪ Cabras | 300 |
| ▪ Tubos vacutainer (tapa roja) | 300 |
| ▪ Jeringuillas de 5 ml. | 300 |
| ▪ Gel refrigerante (pilas) | 4 |
| ▪ Termo | 1 |
| ▪ Tablero | 1 |
| ▪ Esferográficos. | 1 |
| ▪ Lápiz | 1 |
| ▪ Hojas de registro para la toma de muestras. | 15 |
| ▪ Guantes (pares) | 50 |
| ▪ Etiquetas. | 300 |
| ▪ Mapas. | 1 |
| ▪ Gradillas. | 6 |

| | |
|-------------------------------|----|
| ▪ Vestimentas (overol, botas) | 1 |
| ▪ Cintas Scott | 2 |
| ▪ Fundas plásticas | 10 |

3.2.2. Equipos de Laboratorio

| | |
|-----------------------------------|-----|
| ▪ Computador | 1 |
| ▪ Refrigeradora | 1 |
| ▪ Estufa | 1 |
| ▪ Centrífuga | 1 |
| ▪ Antígeno Rosa de Bengala (fco 6 | 1 |
| ▪ Reloj | 1 |
| ▪ Eppendorf | 300 |
| ▪ Puntas para micropipetas | 500 |
| ▪ Gasa (mts) | 2 |
| ▪ Alcohol 90 grados (galón) | 1 |
| ▪ Micropipetas | 2 |
| ▪ Punta amarilla | 500 |
| ▪ Mandil | 1 |
| ▪ Toallas | 2 |
| ▪ Mascarilla | 50 |
| ▪ Agua destilada (galón) | 1 |

3.3. Manejo del Experimento

3.3.1. Socialización del proyecto con los ganaderos

Previo a la visita a cada uno de los cantones y la visita a cada una de las finca se hizo el contacto con los propietario o con el administrador y se concretó una cita para la ejecución del trabajo (fecha y hora) con el objetivo de que tenga reunido a los semoviente.

3.3.2. Número de animales a muestrearse

Para determinar el número de animales, ha muestrearse, se consideró el número de caprino que están localizados en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas y se tomaron 5cc de sangre por individuos adultos que dan un total de 300 animales. Los animales seleccionados fueron registrados con la respectiva identificación y luego se procedió a tomar la muestra en base a prevalencia histórica de brucelosis en la zona y por otra parte se seleccionaron hembras a partir del segundo parto, con un peso de 40kg y una edad de 18 meses.

3.3.3. Recolección y análisis serológico de la muestras de sangre

3.3.3.1. Recolección de las muestras

Los animales que fueron registrados con la respectiva anticipación se le procedió a tomar la muestra con la jeringa, y se le extrajo la sangre de la vena yugular, la cantidad de cinco centímetros, luego se dejó en un Angulo de 45°, en un tiempo de 30 minutos para obtener el plasma sanguíneo, en lugar seco y fresco. Luego las jeringas se la guardaron en una hielera y se la llevó a laboratorio y se la colocaron en refrigeración a 4° C hasta su análisis.

3.3.3.2. Análisis serológico de la muestras de sangre

Las muestras de sangre obtenidas en las fincas fueron analizadas bajo el método de seroaglutinación, con la prueba de Rosa de Bengala (Tarjeta o Card Test), que a continuación se describe.

3.3.3.2.1. Técnica

En líneas generales, la prueba se realizó de la siguiente manera.

- Se colocaron 0.90 uL de plasma o suero o problema sobre un porta objeto.

- Se colocara 0.30 uL de antígeno Rosa de Bengala (de Card Test) cerca de la gota del suero.
- Se mezcló bien el suero y el antígeno utilizando un agitador o punta distinto para cada muestra. La superficie ocupada por la muestra debe tener un diámetro de 23 a 24.mm.
- Hacer girar la porta objeto durante 4 minutos a razón de 10 a 12 movimientos por minuto. Esto se realizó en forma manual a todas las muestras.
- El resultado de la prueba se lee a los 4 minutos sobre un fondo blanco. Las reacciones positivas presentan grumos de aglutinación, que pueden ser grandes o pequeños.
- La prueba es cualitativa, por lo que el resultado se informa como positivo o negativo.
- La prueba de seroaglutinación se la realizó en el laboratorio de Biotecnología da la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

3.3.4. Análisis e Interpretación de los resultados

Para la interpretación de los análisis se consideró los resultados positivos y negativos. Como positivos se consideraron cuando las muestras presentaron grumos en cualquiera de las concentraciones o diluciones, negativos cuando no presenta grumos.

3.3.4.1. Prevalencia de brucelosis caprina

En base al resultado del análisis laboratorio, de los casos positivos y mediante las pruebas aritméticas y porcentuales se determinó su prevalencia mediante la siguiente fórmula.

$$\text{PBC} = \frac{\text{Número de animales positivos}}{\text{-----}} \times 100$$

Número de animales muestreados

Dónde:

PBC= Prevalencia de brucelosis caprina

3.3.4.2. Zonas de mayores Prevalencias.

Luego de los análisis de las muestras serológicas en el laboratorio se procedió a determinar las zonas que tuvieron una mayor prevalencia.

3.3.4.3. Determinación de las pérdidas económicas.

Con la determinación de la prevalencia y su distribución, se calculó el monto de las pérdidas económicas causadas por la enfermedad.

3.3.5. Método de análisis estadístico

Los casos positivos fueron evaluados mediante la Prueba No Paramétrica para una sola muestra, Prueba de Chi Cuadrado, cuya fórmula matemática es:

$$\chi^2 = (F_o - F_e)^2 / F_e$$

En donde:

χ^2 = Chi Cuadrado

F_o = Frecuencias observadas.

F_e = Frecuencias esperadas.

El valor calculado de χ^2 se comparó con el valor tabulado de χ^2 con k – r grados de libertad.

Se realizó también el Análisis de sensibilidad del método de diagnóstico utilizados mediante la fórmula:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{A}{A + C} \times 100$$

| Resultados de la Prueba | Resultados Verdaderos |
|-------------------------|-----------------------|
| Positivos | (A) |
| Negativos | (C) |
| Total | (A + C) |

Población

En los tres cantones se tiene una población de 3560 cabras de los cuales para el estudio se utilizaron una muestra de 300 animales, con un nivel de confianza del 95% y un error del 5% en donde se utilizara la siguientes formula.

$$n = \frac{Z^2 p \cdot q \cdot N}{Ne^2 + Z^2 p \cdot q}$$

Dónde:

n = ¿Muestra

e= 5% = 0.05

$Z = 1.81$ (tabla de distribución normal para el 95% de confiabilidad y 5% error)

$N = 3560$ (universo)

$p = 0.50$ }
 $q = 0.50$ }

$$n = \frac{(2915.73)}{(9.72)}$$

$n = 300cabras$

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Resultados Y Discusión

Para estimar la prevalencia de brucelosis caprina, en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas y se tomaron muestras a 300 animales los cuales arrojaron los siguientes resultados.

4.1. Prevalencia de la Brucelosis caprina, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

De un total de 3560 unidades caprinas, que constituye la población en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas se tomaron a 300 animales; del cual se obtuvieron 262 unidades caprinas negativas a brucelosis y 38 unidades caprinas dieron resultado positivo a brucelosis que produjo un total de 12,66 % de prevalencia de acuerdo con el cuadro y Figura. 1.

Cuadro 1.- Resultados y porcentajes de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

| # de Casos | # de Casos | # de Casos | % de |
|--------------|------------|------------|-------------|
| Investigados | Positivos | Negativos | Prevalencia |
| 300 | 38 | 262 | 12,66 |

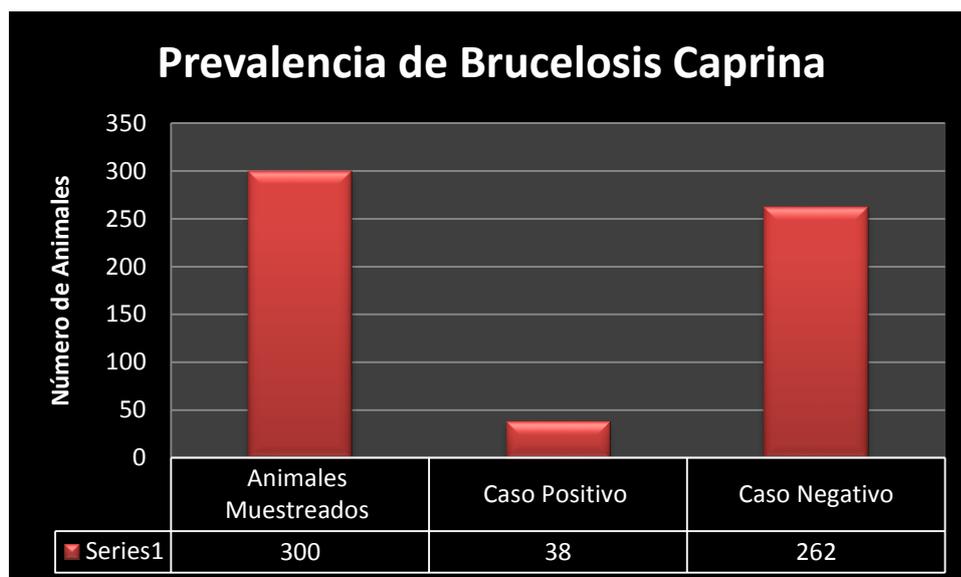


Figura 1.- Numero de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas. 2013.

En la figura 1; se ha observado la prevalencia de brucelosis caprina en la que 38 animales resultaron positivo y se puede sugerir que la posible subestimación de la prevalencia dado el tipo de prueba empleada, y no realiza vacunación con cepa Rev-1 de *Brucella melitensis*. La necesidad de realizar un estudio encaminado a determinar la prevalencia de brucelosis caprinas y a su vez, la evaluación epidemiológica.

4.2. Prevalencia de brucelosis caprina en machos y hembras en edad Reproductiva.

Del total de 300 unidades caprinas muestreados; 288 fueron hembras y 12 fueron machos. Para el caso de las hembras 254 fueron negativas y resultaron positivas (34 cabras) a brucelosis caprinas a lo que equivale al 11,80%, mientras que de los 12 machos, 8 resultaron negativos y 4 reflejaron positivos a brucelosis caprinas lo que equivale al 0,86%, este análisis determina que son más sensibles las hembras en relación a los machos de acuerdo al cuadro 2. La prueba de Chi Cuadrado determinó significancia estadística de acuerdo al sexo. ($P \leq 0.05$). Ver figura 2 y Cuadro 2

Cuadro. 2. Evaluación de los casos positivos de Brucelosis Caprina, mediante la prueba no paramétrica para una sola muestra, prueba de chi cuadrado, para el sexo, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

| Casos positivos | Fo | Fe | (Fo-Fe) | (Fo-Fe)² | (Fo-Fe)/Fe |
|------------------------|------------|-----------|----------------|----------------------------|-------------------|
| Macho | 4(0.86%) | 19 | -15 | 225 | 15 |
| Hembra | 34(11.80%) | 19 | 15 | 225 | 15 |
| TOTAL | 38 | 38 | 0 | | 30 |

$$38 / 2 = 19$$

$$G.I. = (k-1)$$

$$G.I. = 2-1$$

$$G.I. = 1 \text{ y al } 5\% \quad X^2 = 3.84 \text{ (Cuadro)}$$

Como X^2 calculado es mayor que el X^2 de la cuadro, concluimos que no hay significancia estadística entre el sexo.

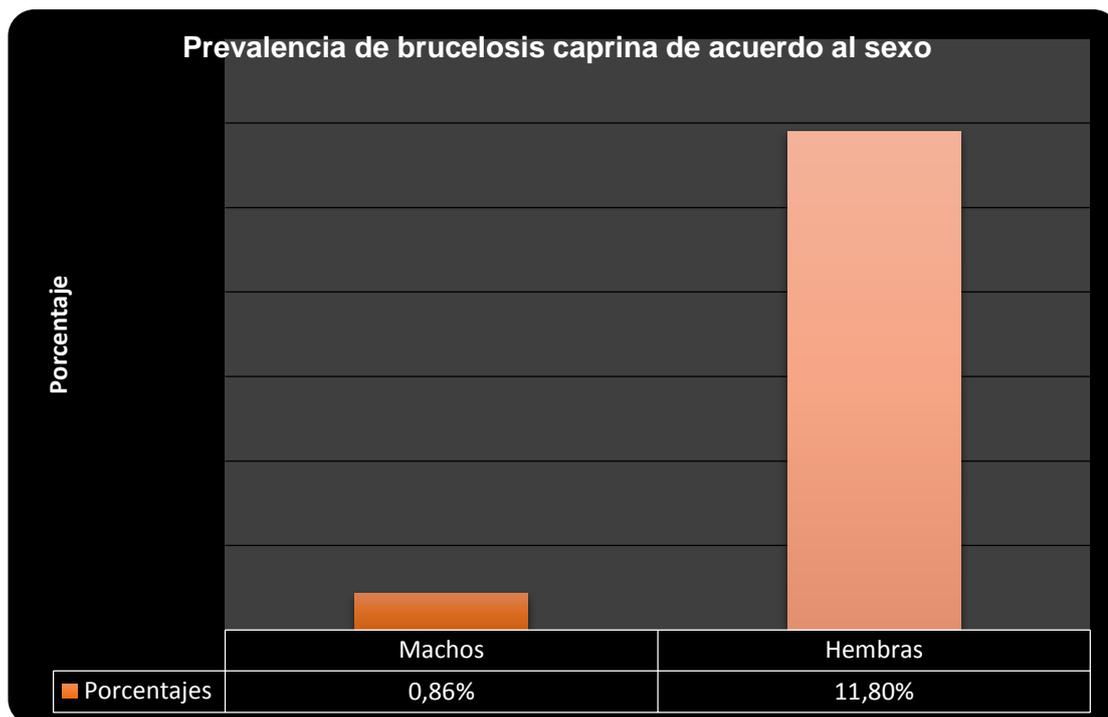


Figura 2.- Resultados y porcentajes de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, según el sexo

Las hembras son más susceptibles a la infección por cepas lisas de *Brucella* spp. En particular las que corresponden a la especie de *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*. De igual modo, las hembras hijas de madres brucelosas pueden ser negativas a las pruebas serológicas por ser inmunotolerantes, pero permanecer persistentemente infectadas y constituir un riesgo para el resto de los animales (López *et al.*, 1992; Martínez, 2005); sin embargo, debe considerarse que de acuerdo con las recomendaciones de Alton *et al.* (1988).

La seroprevalencia encontrada en hembras por la confirmación con la prueba de RB fue de 12.66% como se observa en el cuadro 1, que es menor a la encontrada por Monserrate y Zamora (2011) en Balzar, que alcanzó el mayor grado de positivismo, de 125 (39,2 %); 122 (38,2) negativo y 72 (22,6) sospechosos casos, no así en el cantón Quevedo que fue de 18 (13,5 %) de positivo; 102 (76.7%) y 13 (9.8 %) sospechosos, además en este cantón hubieron seis casos en cabras es decir el (24 %) lo que indica un positivismo

de 24 animales por cada 100 caprinos, 16 (64%) negativo y 3 (12%) sospechosos. Además en otras investigación con bovino (Vera, 2013 y Arias, 2013), encontraron un 29% y 29.33 respectivamente en la diferente provincia tanto en Santo Domingo, como Manabí en bovino criollo quienes han obtenidos rusticidad.

La disminución de la seroprevalencia observada en este estudio con el uso de la prueba de RB, permite confirmar que la brucelosis en las zonas ha contribuido en disminuir la infección por *Brucella* spp que los hábitos de socialización de las hembras como lamer membranas fetales, fetos y crías recién nacidas, constituyen una fuente de infección importante Alton et al. (1988).

4.3. Prevalencia de la Brucelosis caprina, en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, de acuerdo a la procedencia.

De los 300 caprinos que constituyó la muestra investigada; obtenidos en los tres cantones de las cuales resultaron, 38 animales resultaron positivos y procedieron de las siguientes zonas:

En el cantón Isidro Ayora resulto siete (2,33%) caso positivo, en el Cantón Lomas de Sargentillos arrojó 13 (4,33%) caso positivo y en el Cantón Pedro Carbo resultó 18 (6,00%) casos positivos cada uno, como se muestra en los cuadros 3 y 4 Indicando que si hay significancia estadística con respecto a la procedencia. ($P \leq 0.05$). Ver cuadro 3 y 4, figura 3.

Cuadro 3.- Procedencias de los animales positivos y negativos a brucelosis en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

| Procedencia Zonas | # de animales muestreados | # de Casos Positivos | % de Casos Positivos | SEXO | |
|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|----------|
| | | | | H | M |
| Cantón Isidro Ayora | 79 | 7 | 2,33 | 6 | 1 |
| Cantón Lomas de Sargentillo | 110 | 13 | 4,33 | 12 | 1 |
| Cantón Pedro Carbo | 111 | 18 | 6,00 | 16 | 2 |
| TOTAL | 300 | 38 | 12,66 | 34 | 4 |

Cuadro. 4. Evaluación de los casos positivos de Brucelosis Bovina, mediante la prueba no paramétrica para una sola muestra, prueba de chi cuadrado, para su lugar de procedencia en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

| Casos positivos | Fo | Fe | (Fo-Fe) | (Fo-Fe) ² | (Fo-Fe)/Fe |
|-----------------------------|-----------|--------------|-------------|----------------------|-------------|
| Cantón Isidro Ayora | 7 | 12.67 | -5.67 | 32.15 | 2.53 |
| Cantón Lomas de Sargentillo | 13 | 12.67 | 0.33 | 0.11 | 0.01 |
| Cantón Pedro Carbo | 18 | 12.67 | 5.34 | 28.52 | 2.25 |
| TOTAL | 38 | 38.00 | 0.00 | | 4.79 |

$$38 / 3 = 12.67$$

$$G.I. = (k-1)$$

$$G.I. = 3-1$$

$$G.I. = 2 \text{ y al } 5\% \quad X^2 = 5.99 \text{ (tabla)}$$

Como X^2 calculado es menor que el X^2 de la tabla, concluimos que si hay significancia estadística entre el lugar de procedencia, es decir entre los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

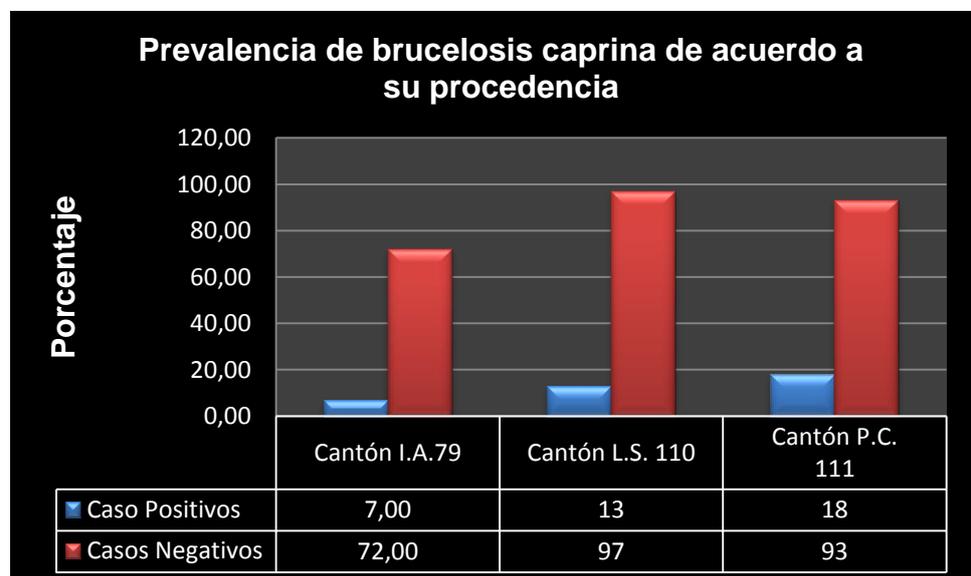


Figura.3. Procedencias de los animales positivos y negativos a brucelosis en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

Comparando las prácticas de los ganaderos, observamos como posibles factores desfavorables para el control de la Brucelosis, un desconocimiento mayoritario sobre la enfermedad y un intercambio de animales con otros hatos (es una práctica frecuente en los cantones medio que el comprador no solicite registros sanitarios de los animales, por ejemplo al comprar reproductores). Esto concuerda con Monserrate y Zamora (2011), quienes mencionan que los animales de reemplazo generalmente son del propio hato y que sólo 20% de ganaderos compran semovientes de otros hatos. Sin embargo, en esta zona

aún existen características que dificultarían la prevención y control de esta infección.

Primero, en la mayoría de casos existe crianza conjunta con otras especies animales; esta práctica, además de generar hacinamiento y aumentar el riesgo de infección caprina por inhalación del polvo de los establos, obliga a realizar la vacunación en otras especies (ganado bovino), es decir, requiere mayor intervención educativa.

Segundo, la alimentación del ganado en campo abierto, que sumado a la falta de control de tierras y pastos y a la cualidad trashumante de los criadores, facilitan la diseminación de la infección de caprinos por el contagio a través de la mucosa nasal por ingestión de materias contaminadas de bacterias excretadas por los animales infectados (Sreevatsan *et al.*, 2000). Cambiar estas prácticas también implica intensa intervención educativa, tarea más dificultosa de lograr en una población objetivo de bajo nivel de instrucción.

Pérdidas Económicas.

El modelo matemático adoptado para el cálculo de las pérdidas económicas por Brucelosis bovina, incorpora dos aspectos fundamentales. La ocurrencia de abortos y la disminución de la producción de leche y carne. En el cuadro 5, se observan los resultados a cerca de las pérdidas económicas que sufre el ganadero cuando una cabra aborta, se estima que en las ganaderías de los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, el productor deja de percibir \$ 180,00 por cada aborto, es por el precio del cordero. A esto también se suma el costo de la reproductora de \$350. A más de los resultados obtenidos se debe considerar la pérdida que tiene el ganadero que por efecto de la brucelosis el animal queda infértil, también el nacimiento de corderos débiles o portador sano, lo hace que se la venda para camal y no así como un material de alto valor genético dando un total de \$530 dólares.

Cuadro 5.- Estimación de la pérdida económica causada por el aborto producido por la en en tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas.

| Parámetros | Isidro Ayora | Lomas de Sargentillo | Pedro Carbo |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------------|--------------------|
| Valor del cordero | 180,00 | 180,00 | 180,00 |
| Costo de la Reproductora | 350,00 | 350,00 | 350,00 |
| Total de pérdida (\$) | 530,00 | 530,00 | 530,00 |

El costo del análisis de brucelosis para caprino con la prueba Rosa de Bengala es de \$ 2.0.

La consecuencia de la perdida por brucelosis se lo mide a través del aborto de la cría en el último tercio de gestación y la reposición de la reproductora de alto potencial genético. Igualmente se debe considerar lo indicado por Monserrate y Macías (2011); quienes manifiestan que son muy pocas las hembras infectadas que se curan completamente por lo tanto se las debe considerar portadoras permanente de la infección por lo que el ganadero debe optar por deshacerse de los animales con brucelosis y alguno otros autores mencionado en los antecedentes manifiesta que esta bacteria puede permanecer de por vida dentro del organismo del animal por lo tanto que recomienda mandar el reactor positivo al camal. Por otro lado coincide en otras especies manifestado por Arias (2013), quien calcula una pérdida de \$520 dólares por ternero y baja producción de leche en la provincia de Manabí. Según el SESA (2002), la brucelosis causa una pérdida anual de más \$ 3000000 de dolares en el Ecuador por perdida de cría, baja producción de leche y carne y reposición de la reproductora.

La prueba convencional de Rosa de Bengala aplicada a este tipo de muestra ha demostrado a través de los años unas series de ventajas sobre la prueba serológica, en la que ha sido de gran utilidad en países que han controlado o mantuvieron niveles muy bajos de infección. Por otra parte no se aceptan las hipótesis en este estudio. En la que manifiesta que el estudio encontraremos 25% de animales seropositivos a brucelosis en la cabra en los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), de la Provincia del Guayas, tomando como herramienta diagnóstica la prueba Rosa de Bengala y teniendo en cuenta el origen común de los animales en la zona y la relación estrecha con otras especies susceptibles.

Por lo tanto rechazamos la hipótesis en la que indica que en este estudio no encontraremos animales seropositivos a brucelosis en la cabra en los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas, tomando como herramienta diagnóstica la prueba Rosa de Bengala y teniendo en cuenta el origen común de los animales en la zona y la relación estrecha con otras especies susceptibles, ya que en esta investigación si encontramos un 12.66% de brucelosis.

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones Y Recomendaciones

De acuerdo a los resultados en el presente ensayo se llegó a las siguientes conclusiones

1. Sobre 300 animales muestreados en los tres cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo) de la Provincia del Guayas se determinó una prevalencia de brucelosis caprina de 12.66%.
2. La presencia de *Brucella melitensis*, en los hatos ganaderos es mayor en las hembras, con un 11.80% y en los machos 0.86%. El análisis mediante la Prueba No Paramétrica de χ^2 no determinó significancia estadística ($P \leq 0.05$).
3. Se estableció que la prevalencia de brucelosis bovina según su cantones es la siguiente; en el cantón Isidro Ayora es de 2.33%, cantón Loma de Sargentillo de 4.33% y Pedro Carbo 6%. El análisis mediante la Prueba No Paramétrica de χ^2 determinó significancia estadística ($P \leq 0.05$).
4. La sensibilidad y especificidad de esta prueba (Rosa de Bengala) fue de 12,67 y 87.33 % respectivamente
5. Las pérdidas económicas provocadas por la brucelosis en los tres cantones de \$ 530, 00.
6. El costo de análisis por animal fue de \$ 2

5.2. Recomendaciones

Analizadas las conclusiones, se recomienda:

1. Sacrificar a los animales con reacción positiva a brucelosis en la presente investigación, para evitar de esta manera posible contagio y la diseminación de la enfermedad.
2. Aplicar con carácter obligatorio a la vacunación a animales destinados a la reproducción con el fin de llevar un control epidemiológico de esta enfermedad.
3. Que Agrocalidad, el MAGAP y el MSP realicen campañas de difusión, control y erradicación, dando a conocer los riesgos que representa la brucelosis como enfermedad tanto en el hombre como en los animales y sus consecuencias en los aspectos de producción animal sanitario y económico
4. Tomar las medidas preventivas más adecuadas para poder llegar a mantener los cantones con niveles bajos de infección.
5. Que las personas que laboren en el manejo de los animales y tomen leche cruda, sean sometidos a pruebas serológicas para conocer si han sido infectados y recibir su tratamiento.
6. Al introducir animales de otro predio se debe realizar el análisis de laboratorio para prevenir la presencia de la enfermedad en la finca

CAPÍTULO VI.

BIBLIOGRAFIA

6.1. Bibliografía consultada

- Adams G.** 1997. Brucellosis: an overview. Primer seminario International Conference on Emerging Zoonoses. *Emerging Infect Dis* 3:1-12.
- Abeledo, M. A.** 1981. "Prueba de Rosa de Bengala en el Diagnóstico de la brucelosis bovina en Cuba". Tesis de Candidatura. CENSA.
- Akakpo, A. J.** 1991. "Brucellosis animales en Afrique tropical. Particularités, epidemiologique, clinique e bacteriologique. *Rev. Eler Med. Pays Trop.* 40:307.
- Al – Attas R.A., Al –Khalifa M., Al- Qurashi A.R., Badawy M. Y Al- Gualy.** 2000. Evaluation of PCR culture and serology for the diagnosis of acute human brucellosis. *Ann. Saudi. Med.* 20 (3): 224 – 228.
- Alton, G. G., L. M. Jones, R.D. Angus and J. M. Verger.** 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris.
- Aréstegui, M.B; Gualtieri, C.S.; Domínguez, J. et al.** 2001. El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. *Veterinaria de México.* Abril- Junio. 32(002): 131-139. [En línea] <<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=42332206>> [Consulta: 21-10-2013].
- Argorte, E.** 1984. "brucelosis bovina; valoración de diferentes pruebas complementarias para el diagnóstico serológico en Cuba". Tesis de Candidatura. CENSA.
- Argorte, E.** 1989. "Aplicación de la técnica ELISA en el diagnóstico de la brucelosis bovina en Cuba". *Rev Cub. Ciencias Vet.* 20:180.
- Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F.** 1992. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis*; 14: 131-140.
- Arias. G. Vera. N.** 2013. Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia de Manabí mediante la prueba Rosa de Bengala. Tesis de Grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. pp. 86

- Baily GC, Kraahn JB, Drasar S and Stokeer N.** 1992. Detección de *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. *J Trop Med Hyg.*; 95: 271-275
- Baldwin CL, Winter A.J.** 1994. Macrophages and *Brucella*. *Immunol Ser*; 60: 363-380.
- Barbara. R. (2002).** Publicación oficial de los primeros resultados del III Censo Nacional Agropecuario.
- Benenson, A.** 1997. Manual para el control de enfermedades transmisibles, 1997; 26a edición OPS-OMS, pg 26.
- Betancourt, Xiomara.; Sánchez, Iris.:** 1991. "Valoración de los métodos serológicos y bacteriológicos en la brucelosis Porcina". Programa-Resumen IV Congreso Asociación Latina de Veterinarios Especialistas en Cerdos (ALVEC). I Congreso de la Asociación Cubana de Veterinaria Porcina. p.p. 60.
- Boffil, P.; Rivas, A.; Ramirez, W.; Montañez, J.; Martinez, A.; Quincoses, T.; González, L. R.; Fustes, E.** 1989. "Manual de Enfermedades Infecciosas". Tomo I. Ed. I.S.A.C.H.
- Bustamante S.J., Salazar H.F., Diaz A.E., Manzano C.C., Perez G.R. y Hernández A.L.** 2000. Estudio bacteriológico y serológico de brucelosis en vacas revacunadas con dosis reducida de cepa C19 de *Brucella abortus*. *Tec. Pecuaria. Mex.* 38(1): 35- 42
- Castro, H.A; Gonzales, S.R; Prat, M.I.** 2005. Brucelosis: Una revisión práctica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* 39 (2): 203-216. [En línea] <<http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v39n2/v39n2a08.pdf>> [Consulta: 20-10-2013].
- Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sánchez de Mora D, Delgado M, Causse M, et al.** 1996. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: A study of 530 cases. *Medicine*; 75: 195-211.

- Contreras, C.; Meneses, R.** 2005. Cabras Criollas Seleccionadas. En: Mujica, F. (ed.). Razas ovinas y caprinas en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 127. pp. 79-80
- Davis, R.; Bickett-Weddle.** 2004. Brucellosis. [Diapositivas]. Iowa, Estados Unidos de América. The Center for Food Security and Public Health. 1-68 diapositivas. [En línea] <<http://www.cfsph.iastate.edu>> [Consulta 20-12-2013].
- Díaz, C.** 2001. Proyecto de investigación de enfermedades infecciosas en el Ganado Bovino de la Zona Central del Litoral Ecuatoriano INIAP. PRPMSA; SESA; ASOGAN: Quevedo, Ecuador.
- Elham, M; Mohammad, H; Gholamreza, J; Kazem, P; Taher, N.** 2009. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of HBV in Iran
- Fátima, M.R; Garrido, A.** 2002. Género Brucella. En: Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana Editores. Madrid, España. pp. 275 – 292.
- Fernández, A.** 1982. "Algunos aspectos epizootiológicos de la brucelosis bovina en las condiciones de la República de Cuba". Tesis para optar por el grado de Candidato a Doctor en Ciencias Veterinarias. I.S.C.A.H. San José de Las Lajas.
- Gotuzzo, E; Carrillo, C; Seas, Y; Álvarez, O.** 1989. Epidemiological and Clinical Features of Brucellosis in Family Groups, *Enf. Infec. Microbiol. Clin.*, 7 (10): 519-24.
- Gutiérrez, E.J.; Zapata, D.; Dájer, A.** 2005. Epidemiología, prevención y control de la brucelosis bovina. En: Enfermedades de importancia económica en producción animal. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, D.F. pp. 339 – 351.
- Inec - Mag-Sica.** 2001. III Censo Nacional Agropecuario. Ecuador.

- Leal-Klevezas D., Martínez-Vásquez I. O; López-Merino A, et al. 1995b.**
Single step PCR for the detection of *Brucella* spp. From blood and milk of infected animals. *J. Clin. Microbiol.* 33, 3087-3090.
- López, M., Migranas, O, R., Pérez, M. A., Magos, C., Salvatierra, I. B., Tapia, C. R., Valdespino, J. I., y Sepúlveda, A. J., 1992.**
“Seroepidemiología de la brucelosis en México”. *Arch. Salud Pública, México*, Vol. 34(2), pp. 230-240.
- Lucero, N. E.; Bolpe, E.** 1998. Buffered plate antigen test as a screening test for the diagnosis of human brucellosis. *J.Clin. Microbiol.* 36, 1425-1427. [En línea] < <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/36/5/1425>> [Consulta: 20-10-2012].
- Mantur, B.G.; Amarnath, S.K.** 2008. Brucellosis in India – a review. *J. Biosci.* Nov. 33 (4): 539-547. [En línea] <<http://www.ias.ac.in/jbiosci/nov2008/539.pdf>>. [Consulta: 20- 10-2013].
- Martínez, D; Abeledo, M; Rodríguez, M; Jacome, J; Martínez, E; Vásquez, P; Montes, M.** 2001. Diagnóstico Simultáneo de brucelosis y tuberculosis mediante PCR múltiples. Vol.25 No. 2 Pág.53-57
- Martínez H, I.** 2005: Epidemiología de la brucelosis. Manual de Actualización Técnica para la Aprobación de Médicos Veterinarios en Campañas Zoonositarias para los Bovinos Fed MVZ México, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca y Alimentación. México
- Montilla, A y Zamorano, M.** 2011. Brucelosis: normas preventivas, disponible en: www.medmicro.wisc.edu 1999. (Consulta: 15 de febrero de 2011).
- Monserate, C y Zamora, F.** 2011. Diagnóstico de brucelosis en ovino y caprino en el área de influencia de los cantones Quevedo y Balzar con la prueba Rosa de Bengala y su impacto económico en el desarrollo ganadero. Tesis de Grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. pp. 86

- Mori, Y; Notomi, T.** 2009. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy* 15: 62–69.
- Murray, M. y Thompon, W.** 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 8, 4321 – 4325
- Mobini, S.; Heath, A.; Pugh, D.P.** 2002. Theriogenology of sheep y goat medicine. En: Pugh, D.P. *Sheep y goat medicine*. W.B Saunders Company. United States of America. Pp. 129-186.
- Notomi, T; Okayama, H; Masubuchi, H; Yonekawa, T; Watanabe, K.** 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 28: E63
- Navarro, F; Martín, V; Alcoba, A; Trotti, J; Herrera, P; Chesta, J; Gianello, Y; Mchardy:** 1999. Relevamiento de la situación sanitaria de *Brucella* en humanos y animales en barrios periféricos de Río Cuarto- Córdoba, *Revista de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina*, XIX (1-2): 57-61.
- Orduña A., Bratos Perez, M.A., Abad Fernández, R., Ruiz García L., De Frutos Serna, M., Rodríguez Torres, A.** 2001. La Brucelosis, etiología y origen de la infección humana. pp. 13-20. En: *Manual de Brucelosis*. Editado por Rodríguez Torres y col. Junta de Castilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar Social.
- Potasman, I; Even, M; Banai, E; Cohen, D; Ángel ,Y; Jaffe, M :** 1991. Brucelosis: and Unusual Diagnosis for a Seronegative Patient with Abscesses, Osteomyelitis and Ulcerative Colitis, *Rev. Clin. Dis.*, 13: 1039-42.
- Rhaway, N.** 1993. "Manual Merck de Veterinaria". España.
- Rivera, J; Vallecito, A; R; Romero, E; Acosta, A; Luna, Y.** 2001. Prevalencia de la Brucelosis caprina y su relación con la humana en Tenex-tepec, Municipio de Perote, Veracruz, México, *Publicación seriada*

del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria de la República de Cuba, 23 (3): 160- 164.

Robles, C.A.; Lanari, M.R.; Pérez Centeno, M.; Domingo, E. 1999. Relevamiento de Brucelosis y Artritis-Encefalitis en caprinos criollos de la provincia de Neuquén - Veterinaria Argentina, 16: 740-746

Roca B. 1990. Brucelosis. Medicina Integral; 15 (8); 37-49.

Rodríguez. A y Mariscal. J. 2010. Diagnóstico de brucelosis en el personal que labora en los camales de Buena fe, Quevedo, El Empalme y Pichincha. Tesis Ing. Agrop. Quevedo, Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 84 p

Rodríguez, y.; Ramírez, W.; Antúnez, G.; et al. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. Rev. Redvet. VI (9): 1-9. [En línea] <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905/090503.pdf>> [Consulta: 21-12-2013].

Rodríguez, A.; Orduña, A.; Ariza Cardenal, X. et al. 2001. Manual de brucelosis [en línea] <http://los.fish.69.googlepages.com/manualdebrucelosis.pdf> [Consulta: 20-12-2012].

Sakuma,T., Kurosaki. Y, Fujinami, T, Takizawa and Yasuda. J. 2009, Rapid and simple detection of Clostridium botulimun types A and B byloop – mediated isothermal simplification. J. Applied Microbiol., 106: 1252 – 1259.

Sánchez, L; Cepeda, R; Morano, Y. 1998. Análisis de un brote epidemiológico de brucelosis en trabajadores de un matadero, Rev Esp. Salud Pública, 72: 137-46.

Santini, C; Baiocchi, P; Berardelli, A; Venditti, Y; Serra, P. 1994. A Case of Brain Abscess due to *Brucella melitensis*, Clin. Infect. Dis., 19: 977-8.

Sbriglio, J.; Sbriglio, H.; Sainz, S. 2007. Brucelosis una patología generalmente subdiagnosticada en humanos y que impacta

negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. Rev. Bioanálisis. Ene-Feb.: 18-22 [En línea]

SESA. 2002. Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria

Sreevatsan, S; Bookout, B; Ringpis, F; Perumaalla, V; Ficht, A; Adams, G; Hagius, D; Elzer, H; Bricker, J; Kumar, K; Rajasekhar, M; Isloor, S; Barathur, R. 2000, A Multiplex Approach to Molecular Detection of *Brucella abortus* and/or *Mycobacterium bovis* Infection in Cattle. J. Clin. Microbiol. 38. 2602-2610.

Vera, N. 2013. Incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas. Tesis de Grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. pp. 86

Young E.J. 1991. Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases of agglutination test and review of the literature. Rev Infect Dis; 13:359-72.

Young, E. J. 1995. An Overview of Human Brucellosis, Clin Infect. Dis., 21: 283-290.

Wilson, G.; Miles, A. 1975. "Topley and Welsons. Principles of bacteriology, virology and inmunity". Quinta Edición. Vol. 1. Cap. 33. Ed. Revolucionaria. Instituto Cubano del Libro. La Habana.

Wray C, 1975. Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. Veterinary Bulletin, 45:Abstract 546.

CAPÍTULO VII.

ANEXOS

ANEXO 1



Foto. 1. Hatos seleccionados para la investigación



Foto. 2. Preparando la vena para la extracción



Foto.3 Extracción de muestra



Foto.4. Muestra lista para traslado al laboratorio



Foto. 5. Muestra en reposo para conseguir el



Foto. 6. Materiales de laboratorio



Foto. 7. Comprobación de muestra en el

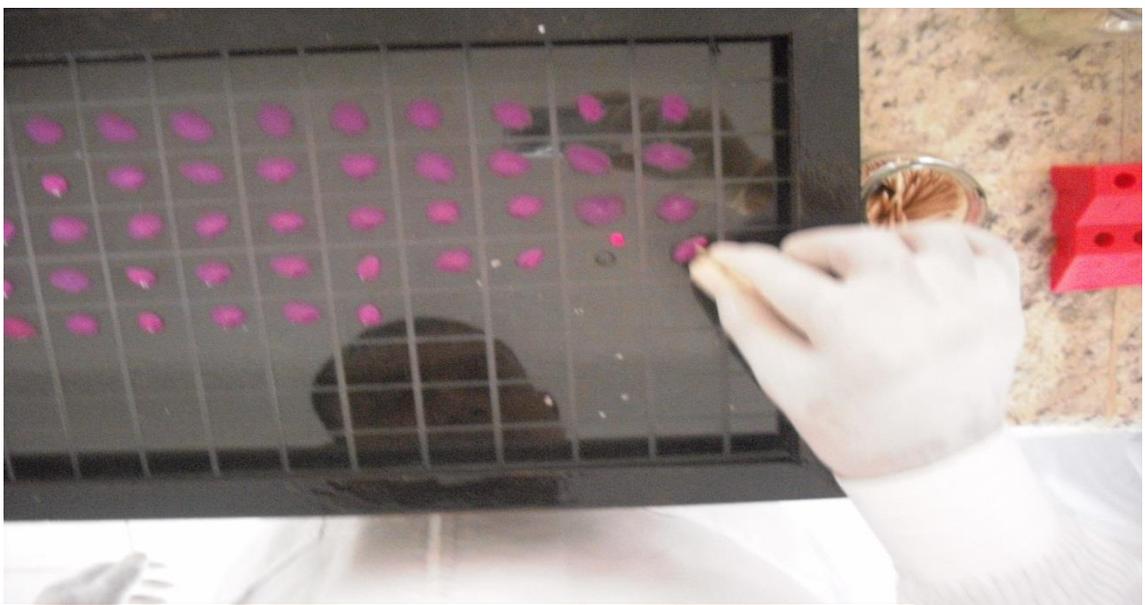


Foto. 8. Prueba de aglutinación

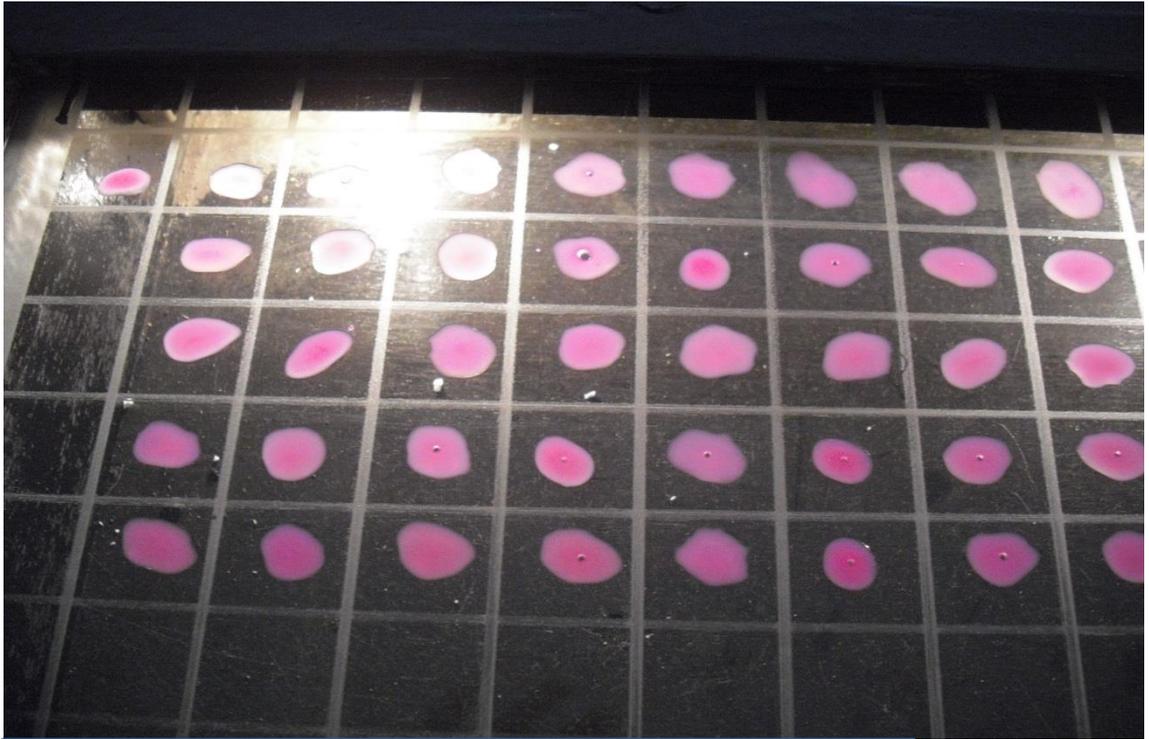


Foto.9. resultado de las muestras.