



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA

MODALIDAD SEMIPRESENCIAL

CARRERA: INGENIERÍA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

**ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA
(*Brucella melitensis*) EN LA PROVINCIA DE MANABI EN LOS
CANTONES (PUERTO LOPEZ, BOLIVAR Y SUCRE)”**

AUTOR:

Renee Alberto Muñoz Barre

DIRECTOR

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ. MSc

QUEVEDO – LOS RIOS - ECUADOR

2015



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA

MODALIDAD SEMIPRESENCIAL

CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

**Presentado al Consejo Directivo como requisito previo a la
obtención del título de Ingeniero Agropecuario**

Aprobado:

**Dr. José Miguel Romero Romero; M.Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS**

**Ing. Ronald Cabezas Congo; M.Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Ing. Lauden Rizzo Zamora; M.Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2015

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Renee Alberto Muñoz Barre 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.

Renee Alberto Muñoz Barre

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

El suscrito, Ing Orly Fernando Cevallos Falquez, MSc. Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el Egresado Renee Alberto Muñoz Barre, realizó la tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, tesis titulada “ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA (*Brucella melitensis*) EN LA PROVINCIA DE MANABI EN LOS CANTONES (PUERTO LOPEZ, BOLIVAR Y SUCRE)”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ, MSc.
DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas las autoridades de las UTEQ, que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, investigación en especial al Ing Lauden Rizzo, coordinador de la UED, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años. Especial reconocimiento merece el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas del profesor y amigo Orly Cevallos, con la que me encuentro en deuda por el ánimo infundido y la confianza en mí depositada. Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de mi familia y amigos. A todos ellos, muchas gracias.

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios y a mis padres. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida

RENEE

INDICE	Pág
Portada.....	i
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	ii
Certificación del Director de Tesis.....	iii
Tribunal de Tesis.....	iv
Agradecimiento.....	v
Dedicatoria.....	vi
Índice.....	vii
Índice de cuadros.....	x
Índice de anexos.....	xii
Resumen ejecutivo.....	xiii
Abstract.....	xiv

CAPÍTULO I.....1

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN1

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.	Antecedentes	6
2.1.2.	Brucelosis en cabras.....	6
2.1.3.	Historia de la Brucella spp	7
2.1.4.	Agente causal	8
2.1.5.	Patogénesis	9
2.1.6.	Diagnóstico	11
2.1.7.	Prueba de rosa de bengala.....	13
2.1.8.	Investigaciones realizadas en Ecuador.....	13

CAPÍTULO III.....	16
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	16
3.1. Localización y duración del experimento	17
3.1.1. Características edafoclimáticas de las zonas.....	17
3.2. Materiales y equipos	18
3.2.1. Material	18
3.2.2. Equipos de Laboratorio	19
3.3. Establecimiento y manejo del experimento	20
3.3.1. Socialización del proyecto con los ganaderos.....	20
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	21
3.3.4. Análisis e interpretación de los resultados	21
3.3.4.1. Prevalencia de brucelosis caprina.....	22
3.3.5. Métodos de análisis estadísticos.....	22
CAPÍTULO IV.	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CAPÍTULO V.	32
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
CAPÍTULO VI.	35
BIBLIOGRAFIA	36
CAPÍTULO VII.	39
ANEXOS	40

Índice de cuadros

Cuadro		Pág.
1	Condiciones meteorológicas de la zona de investigación estudio para epidemiológico de la brucelosis caprina (<i>Brucella melitensis</i>) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre)	17
2	Materiales y equipos en el estudio epidemiológico de la brucelosis caprina (<i>Brucella melitensis</i>) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre). Quevedo. 2015.	19
3	Resultados y porcentajes en el epidemiológico de la brucelosis caprina (<i>Brucella melitensis</i>) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López (PL), Bolívar (B) y Sucre (S))	25
4	Estimación de la pérdida económica causada por el aborto epidemiológico de la brucelosis caprina (<i>Brucella melitensis</i>) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).	30

Índice de Figura

Figuras	Pág.
1	Número de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre). 26

RESUMEN EJECUTIVO

La brucelosis es una enfermedad producida por el bacilo gram negativo del género *Brucella*. El lipopolisacárido que se encuentra en la membrana de la bacteria es el mayor determinante de virulencia. Las manifestaciones clínicas son inespecíficas, existiendo formas localizadas hasta en un 30% de los casos. Determinar la prevalencia de Brucelosis caprina en La Provincia de Manabí en los Cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre), cuya coordenadas, geográficas es de 1° 3' 8" S y 80° 27' 20" longitud Oeste, a una altura de 6 - 350 msnm. Se colectaron muestras de sangre de 300 cabras de más de uno año de edad, procedentes de nueve hatos y no vacunados contra brucelosis caprina. Hubo 19 cabras serorreactoras con la prueba Rosa de Bengala, y 381 negativas dando una prevalencia de brucelosis caprina de 6.33 %. Esta baja prevalencia podría deberse al efecto positivo del Programa de Control y Erradicación de Brucelosis conducido por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGA) y Agrocalidad desde el año 2008 en el Ecuador.

Palabras clave: brucelosis, cabras, rosa de bengala, MAGA

ABSTRACT

Brucellosis is a disease caused by gram-negative bacilli of the genus *Brucella*. Lipopolysaccharide found in the membrane of the bacterium is the major determinant of virulence. The clinical manifestations are nonspecific, localized forms exist up to 30% of cases. To determine the prevalence of caprine brucellosis in the province of Manabi in the Cantons (Puerto Lopez, Bolivar and Sucre), which coordinates, geographical is 1 3 '8 "S and 80 ° 27' 20" west longitude, to a height of 6 - 350 m. Blood samples of 300 goats over one year of age were collected from nine unvaccinated herds and goats against brucellosis. There were 19 goats seroreactoras the Rose Bengal test, and 381 negative giving a prevalence of 6.33% caprine brucellosis. This low prevalence could be due to the positive effect of the Program for Control and Eradication of Brucellosis led by the Ministry of Agriculture (MAGA) and Agrocalidad since 2008 in Ecuador.

Keywords: Brucellosis, goats, rose bengal, MAGA

CAPÍTULO I
MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Introducción

La brucelosis es una enfermedad de alta contagiosidad que afecta diversas especies animales, que se transmite al hombre y por tanto constituye una zoonosis. Es de curso crónico, afecta en forma severa la salud del animal al ocasionar abortos en varias especies de importancia zootécnica, por lo que genera un impacto económico negativo en la industria debido a las importantes pérdidas originadas en la producción de carne y leche. La brucelosis es causada por bacterias del género *Brucella* cuyas características consisten en ser cocobacilos Gram negativos, pequeños, inmóviles y anaerobios estrictos, de crecimiento lento, forman esporas y carecen de cápsula. Son catalasa y oxidasa positiva y no fermentan los azúcares.

La brucelosis, es uno de los principales problemas zoonosarios para el hombre, alcanza una mayor prevalencia en zonas donde las características ecológicas permiten altos índices de agostadero y propician una alta densidad en la población. Existen además, factores socioeconómicos que favorecen la presencia de la enfermedad, como son: la desigual estructura poblacional de los caprino cultores, el subdesarrollo tecnológico, el deterioro económico - cultural de las mayorías de las familias de los sectores rural y suburbano, la escasa o nula organización de las comunidades, el bajo nivel de conocimiento en la producción, la poca conciencia sanitaria y la apatía por parte de algunos productores.

Cada año existen alrededor de medio millón de casos de brucelosis humana en el mundo, la prevalencia más alta en el hombre se encuentra en los países con tasas elevadas de brucelosis por *Brucella melitensis* en caprinos, ovinos o en ambas especies. A la brucelosis de las cabras se le identifica como un problema de salud pública; se incluyen los costos de tratamientos en humanos, además de las grandes pérdidas económicas que ocasiona a la ganadería nacional. La producción de carne y leche con malos hábitos de higiene puede contribuir, entre

otras cosas, al contacto directo efectivo de los animales enfermos con las personas que se dedican a la explotación de esta especie animal. El signo clínico más frecuente de la epididimitis infecciosa es el aumento de tamaño, generalmente unilateral, del epidídimo, algunos animales infectados no presentan alteraciones testiculares detectables mediante palpación, por lo que es necesario recurrir a pruebas serológicas y bacteriológicas para establecer un diagnóstico preciso. El diagnóstico serológico se realiza con base en la demostración de la presencia de anticuerpos frente a antígenos de *B. melitensis*.

Debido a que la caprina cultura es una actividad que se realiza por lo general en comunidades de escasos recursos económicos, con mucha marginación y falta de conocimiento sobre las buenas prácticas de manejo zootécnico, bioseguridad y conservación del medio ambiente como ocurre en el Ecuador, principalmente en la provincia de Manabí, y que los casos de brucelosis animal y humana siempre han estado presentes en la zona de influencia de esas demarcaciones, es necesario determinar la cero prevalencia, los factores de riesgo asociados a su presentación y la distribución espacial de la enfermedad dentro de los municipios y unidades de producción, para ayudar a las instancias públicas en la toma de decisiones en la implementación de programas de salud pública para el control y erradicación de la enfermedad.

1.2. Objetivos

1.2.1 General

- ✓ Determinar la prevalencia de Brucelosis caprina en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).

1.2.2 Específicos

- ✓ Conocer la sero prevalencia de brucelosis caprina mediante las prueba serológica Rosa de Bengala.
- ✓ Establecer la distribución geográfica de la brucelosis caprina en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).
- ✓ Estimar el porcentaje de casos y su repercusión económica.

1.3 Hipótesis

- ✓ La prueba serológica Rosa de Bengala revelará que la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) existen un alto porcentaje de brucelosis caprina.
- ✓ La prueba serológico de la Brucelosis caprina representa una herramienta certera en la determinación de la prevalencia y factores de riesgo zoonotico

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades

2.1.1. Antecedentes

La brucelosis se ubica en la lista B de la OIE, donde se enumeran enfermedades transmisibles que se consideran importantes desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario a nivel nacional, y cuyas repercusiones en el comercio internacional de animales y productos de origen animal son de alto impacto (OIE, 2009).

La propagación de la enfermedad y constan de estrategias específicas para su control y erradicación, entre las que se destacan los programas de control en sus modalidades de control – vacunación, control –intensivo y control – erradicación; estos dos últimos, además de incluir la vacunación de hembras sanas de acuerdo con su edad, requieren de una sola prueba diagnóstica, la cual permite de forma indirecta conocerla cero prevalencia de cada hatos (OIE, 2009).

2.1.2. Brucelosis en cabras

Además, *B. melitensis* constituye un importante patógeno humano. En los humanos, la brucelosis es una enfermedad grave, debilitante y, algunas veces, crónica que puede afectar diversos órganos. Aunque la mayoría de los casos se deben a la exposición ocupacional a animales infectados, las infecciones también pueden ocurrir al ingerir productos lácteos contaminados. Por otra parte, se podría utilizar *B. melitensis* en un ataque bioterrorista (Cutler *et al.*, 2005).

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 (Mantur, 2008).

2.1.3. 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". 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).

2.1.4. Agente Causal

El agente causal de la Brucelosis fue descubierto en 1887 por David Bruce, un medico australiano que fue enviado a Malta para investigar una enfermedad que estaba afectando a soldados de la armada inglesa, aisló la bacteria a partir de tejido humano, a la que se denominó *Micrococcus melitensis*; años más tarde se descubrió la relación zoonótica de la brucelosis de las cabras con la enfermedad de los humanos, posteriormente se observaron similitudes entre las bacterias de distintas especies de animales domésticos y se les agrupó en un género denominado *Brucella* en honor a David Bruce (Castro *et al*; 2005).

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 patogenia (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 *Brucellamelitensis* 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 Mediano este (Rodríguez *et al*; 2001 y Gutiérrez *et al*; 2005).

2.1.5. Patogénesis

La principal vía de entrada es la oral; sin embargo es posible la infección por vía conjuntival y nasal, mediante aerosoles. Las hembras infectadas pueden transmitir la infección a sus crías “*in útero*”, o como ya se explicó, durante la lactancia. Los animales infectados eliminan al microorganismo mediante la leche, la orina, y en particular con las secreciones vaginales. Al entrar al organismo, las brucelas son ingeridas por fagocitos que pretenden eliminar la infección del sitio de entrada. Debido a la capacidad de estas bacterias de multiplicarse en el interior de los fagocitos, causan su destrucción y logran llegar a los nódulos linfáticos, en donde se produce una respuesta inmunológica caracterizada por la formación de granulomas. Si la infección logra superar este mecanismo de defensa, la bacteria

invade al sistema linfático y por medio del ducto torácico llega a la sangre (Fátima y Garrido 2002).

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 supra mamarios. 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 de granulación 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 retículo endotelial. 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 2,11,18.

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.

2.1.6. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento de la *Brucella* en cultivos de sangre, médula ósea, hígado y otros tejidos. La sensibilidad de los hemocultivos para la brucelosis aguda es de 80% y de mielocultivo de 90%. El desarrollo del microorganismo en el medio doble de Ruiz Castañeda habitualmente ocurre entre los siete y veintiún días, aunque existen casos de crecimiento tardío que pueden llegar hasta los 35 días; este método es uno de los más utilizados, aunque tiene la desventaja de que la bacteria crece lentamente (Pappas *et al.*, 2005).

En la actualidad existen medios de cultivo de aislamiento rápido como los sistemas *Bactec Plus*, *Vital Aer* y el medio difásico que permiten la identificación del germen entre 60 y 160 horas, sin embargo, no todos los laboratorios cuentan

con estos sistemas de cultivo.¹⁵ Desde el punto de vista serológico existen diversos métodos de detección, el más utilizado en nuestro medio es la aglutinación en placa, la cual se realiza de manera conjunta con la prueba de Widal y con una reacción cruzada con *proteus* OX-19, estas pruebas se han conocido desde hace muchos años como «reacciones febriles» (prueba de Widal-Huddleson); sin embargo, el problema de las pruebas de aglutinación en placa es su baja especificidad y actualmente no se recomienda su uso (Pappas *et al.*, 2005).

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).

La lucha contra esta enfermedad radica en aplicar medidas sanitarias como la vacunación de las hembras a partir de los tres meses de edad y el uso de pruebas serológicas para la identificación de los animales enfermos para su posterior eliminación, entre otras (Samartino, 2003; Rodríguez *et al.* 2005).

2.1.7. 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 se puede identificar la existencia de anticuerpos frente al antígeno específico de Brucella (Arias y Cárdenas, 2007).

2.1.8. 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 (Monserrate y Zamora, 2011).

Por otro lado 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 (Monserrate y Zamora, 2011).

En otra investigación se determinó la prevalencia de brucelosis caprina en hatos ganaderos de los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), provincia del Guayas 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 (Palma, 2013).

Este mismo autor menciona 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% (Palma, 2013).

En la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas; en hembras caprinas, criadas bajo un sistema semi-estabulado y extensivo los resultados de la prevalencia de brucelosis fue un 2.67% (8 casos positivos); en cuanto a la prevalencia de brucelosis. Se observó una variabilidad en cuanto a seroprevalencia entre hatos entre un rango de 1.67% a 5.0%, con una seroprevalencia total del 2.67%. La seroprevalencia general de anticuerpos de brucelosis en cabras obtenida en la presente investigación es baja en relación a la reportada en estudios similares realizados con anterioridad, esto refleja que la campaña contra brucelosis caprina ha tenido impacto evidente en cuanto a la prevención, control y erradicación de brucelosis. Se determinó que las pérdidas económicas producidas en cabras enfermas es de por aborto es de 600 (Defaz, 2013).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Materiales y Métodos

3.1 Localización y duración del experimento.

Como material se utilizó 300 animales (Hembras adultas) localizado en la provincia de localizado en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) de la Provincia de Manabí. Cuyas coordenadas, geográficas es de 1° 3' 8" S y 80° 27' 20" longitud Oeste, a una altura de 6 - 350 msnm, el tiempo de la investigación fué de cuatro meses

3.1.1. Cuadro 1. Condiciones meteorológicas en el estudio epidemiológico de la brucelosis caprina (*Brucella melitensis*) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre)

Parámetros	Características
Temperatura °C:	25 - 26
Precipitación mm:	754.8
Humedad relativa %:	78.32
Altitud m.s.n.m.:	6 - 350
Heliofania. h./luz/año:	1089.08
Topografía:	irregular

Fuente: INAMHI 2014.

3.1.2. Población de Estudios y Muestras.

En los tres cantones, Puerto López, Bolívar y Sucre de la Provincia de Manabí, se tiene una población de 4875 caprinos de los cuales para el estudio se utilizó una muestra de 300 animales, con un nivel de confianza del 95% y un error del 5% en donde se aplicó la siguiente 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= 4875 (universo)

p = 0.50

q = 0.50

$$n = \frac{(1.82)^2 0.50 \cdot 0.50 \cdot 4875}{(4875)(0.05)^2 + (1.85)^2 0.50 \cdot 0.50}$$

$$n = \frac{0,8281 \times 4875}{(4875)(0.0025) + 0.8281}$$

$$n = \frac{4036,98}{12.1875 + 0,8281}$$

$$n = \frac{4036,98}{13.0156}$$

$$n = 300 \text{ caprinos}$$

3.2. Materiales y equipos.

3.2.1. Material

Como material para determinar la brucelosis caprina se utilizó ganado caprino proveniente de los tres cantones Puerto López, Bolívar y Sucre de la Provincia de Manabí.

Cuadro 2. Materiales y equipos en el estudio epidemiológico de la brucelosis caprina (*Brucella melitensis*) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre). Quevedo. 2015.

Descripción	Cantidad
Animales	
Caprinos (Hembras y Machos)	300
Materiales de Campo	
Tubos vacutainer (tapa roja)	300
Jeringuillas de 5 ml	300
Gel refrigerante (pilas)	2
Termo	1
Tablero	1
Materiales de Oficina	
Esferográficos	1
Lápiz	1
Hojas de registro para la toma de muestras	15
Guantes	1
Etiquetas	300
Gradillas	1
Vestimentas (ropa protectora, botas)	1
Cintas Scott	1
Fundas plásticas	2
Equipos de Laboratorio	
Computador	1
Refrigeradora	1
Centrífuga	1
Antígeno Rosa de Bengala (uL)	990
Reloj	1
Eppendorf	300
Puntas para micropipetas	1000
Alcohol 90 grados (ml)	50
Micropipeta	1
Punta amarilla	1
Mandil	1
Toallas	1
Guantes	1
Mascarilla	1
Agua destilada (ml)	50

3.3. Establecimiento y 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 fincas se realizó el contacto con los propietarios 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 semovientes.

3.3.2. Número de animales a muestrearse

Se consideró el número de ovinos que están localizados en los tres cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) de la Provincia de Manabí, los mismos que son una población total de 4875 caprinos de los cuales se tomaron una submuestra de 300 animales (Hembras) luego se sacaron 5cc de sangre de la yugular por cada semoviente. Los animales seleccionados fueron registrados con la respectiva identificación.

3.3.3. Recolección y análisis serológico de la muestras de sangre

3.3.3.1. Recolección de las muestras

Los animales fueron registrados con la respectiva anticipación y se 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 ángulo de 45°, en un tiempo de 30 minutos para obtener el plasma sanguíneo, en lugar seco y fresco. Seguidamente las jeringas se las guardó en una hielera y se la llevó al laboratorio y se las 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, que a continuación se describe.

3.3.3.2.1. Técnica

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

- Se colocaron 0.90 uL de plasma o suero o problema sobre el vidrio del Aglutinoscopio
- Se colocó 0.30 uL de antígeno Rosa de Bengala 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.
- El resultado de la prueba se leído a los 4 minutos sobre un fondo blanco. Las reacciones positivas presentaron 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.

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

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. Análisis Estadístico

Prevalencia aparente (Pa)

La determinación de la prevalencia aparente de la *Brucella melitensis* en los caprinos en la zona se realizó con la siguiente fórmula:

$$Pa = \frac{\text{Número de animales positivos}}{\text{Número de animales muestreados}} \times 100$$

$$IC = \frac{p \pm z\sqrt{pq}}{n}$$

VP + FN

Dónde:

IC= Intervalo de confianza.

Pa= Prevalencia aparente

Z= Nivel de confianza

q= 1 –p

n= Tamaño de muestra

Prevalencia corregida o real (Pr)

Se obtuvo en base a los porcentajes, 75 % de sensibilidad y 95 % de especificidad de la prueba de Rosa de Bengala. (OIE, 2009). Y se halla mediante la siguiente formula.

$$Pr = \frac{Pa + E - 1}{S + E - 1}$$

Dónde:

Pa = Prevalencia aparente

E = Especificidad de la prueba de Rosa de Bengala

S = Sensibilidad de la prueba de Rosa de Bengala

CAPÍTULO IV.
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia de la Brucelosis caprina en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).

En el cuadro serológico el análisis serológico de las 300 muestras de las cabras muestreadas Puerto López, Bolívar y Sucre, estos sueros mostró un 6.33 % de positividad para *Brucella melitensis*. Además se manifiesta que la seroprevalencia persiste entre las hembras de los nueve hatos analizados con una prevalencia aparente de 6.33%. Se observó una variabilidad en cuanto a seroprevalencia entre hatos entre un rango de 0.33% a 1.33%, con una seroprevalencia total del 6.33% (Figura 1). Por otro lado se realizó el cálculo de Intervalo de confianza dando como resultado de 17.35% ver cuadro (3).

Cuadro 3.- Resultados y porcentajes en el estudio epidemiológico de la brucelosis caprina (*Brucella melitensis*) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López (PL), Bolívar (B) y Sucre (S))

Fincas	Caprinos muestreados	Casos Positivos	Casos Negativos	% de Prevalencia
1	30 (PL)	3	27	1.00
2	30 (PL)	4	26	1.33
3	40(PL)	2	38	0.67
4	30 (B)	3	27	1.00
5	30 (B)	1	29	0.33
6	40 (B)	1	39	0.33
7	30 (S)	2	28	0.67
8	30 (S)	1	29	0.33
9	40(S)	2	38	0.67
Total	300	19 (6.33%)	281 (93.67%)	6.33

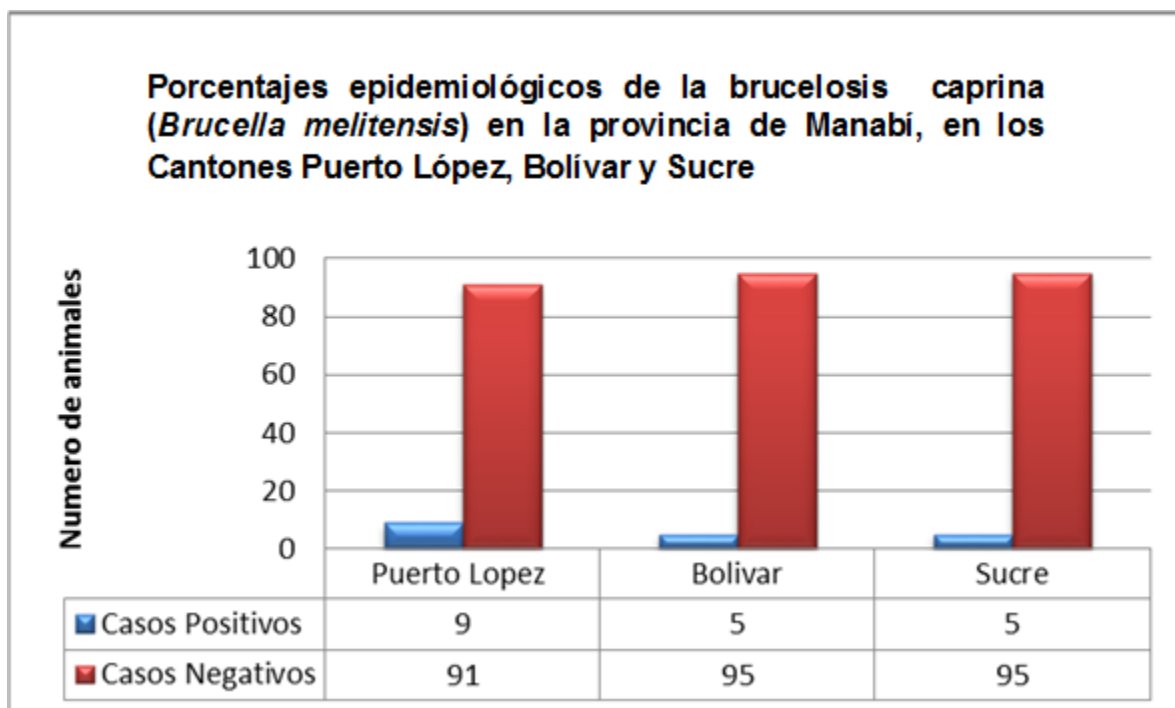


Figura 1. Número de caprinos reaccionantes a la prueba de Rosa de Bengala en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).

En la figura 1; se muestra la prevalencia de brucelosis ovina en la que 19 animales resultaron positivo en los tres cantones de 300 muestras y se puede sugerir que la posible subestimación de la prevalencia dado el tipo de prueba empleada, como los anticuerpos inducidos por Rev.1 no pueden distinguirse de los inducidos por la cepa salvaje, las pruebas serológicas de la brucelosis deben interpretarse en función del estado de vacunación del rebaño. Además estas pruebas no son lo suficientemente específicas como para diferenciar reacciones serológicas debidas a *B. melitensis* de las reacciones falsas positivas debidas a bacterias con reacción cruzada como *Yersinia enterocolitica* O:9.

Se muestrearon 300 animales adultos de hatos que pertenecen a los tres cantones de la provincia de Manabí. Se halló que la mayor prevalencia se la encontró en el Cantón Puerto López. La técnica diagnóstica utilizada para determinar la prevalencia de brucelosis caprina fue la prueba cualitativa de

aglutinación de Rosa de Bengala, la cual presenta la ventaja de ser una prueba simple y es realizada donde se desconoce el estado de la infección. Este resultado están por debajo por Monserrate y Zamora, (2011) que en 452 ovinos en los cantones de Balzar y Quevedo, 319 y 133 respectivamente, obtuvieron en Balzar, 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 ovinos, 16 (64%) negativo y 3 (12%) sospechosos.

Defaz (2013) en hembras caprinas, criadas bajo un sistema semi-estabulado y extensivo los resultados de la prevalencia de brucelosis fue un 2.67% (8 casos positivos); en cuanto a la prevalencia de brucelosis en la provincia de Santo Domingo.

Palma (2013) determinó la prevalencia de brucelosis caprina en hatos ganaderos de los cantones (Isidro Ayora, Lomas de Sargentillo y Pedro Carbo), provincia del Guayas la prueba de Rosa de Bengala; los resultados de la prevalencia de brucelosis fue un 12.86% (38 casos positivos)

4.2. Prevalencia de brucelosis caprina en tres cantones de la provincia de Manabí.

Del total de 300 unidades caprinas muestreados; solo fueron hembras. Para este caso las hembras 281 fueron negativas y 19 resultaron positivas a brucelosis caprinas a lo que equivale al 6.33 %.

Al comparar éstos resultados con el estudio realizado en el Ecuador, nos sugiere que la ausencia de reactores a *Brucella spp.* en los animales muestreados, podría deberse a que la mayoría de caprinos que predominan en la zona pertenecen al sistema de crianza extensiva y sedentaria, no permitiendo un mejor control de los

hatos, como también al programa de control y erradicación de la brucelosis caprina, llevado a cabo desde el año 2010, por el Ministerio de agricultura y ganadería, por otro lado la introducción de animales (caprinos y bovinos) provenientes de otro lado; movilizándose sin el control necesario en busca de alimento para su ganado en época de sequía, factor que favorece la diseminación de la enfermedad.

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 inmutoleras, pero permanecer persistentemente infectadas y constituir un riesgo para el resto de los animales (OIE, 2007).

La prueba Rosa de Bengala reveló una (sensibilidad 75% y especificidad 95 %). 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 melitensis* y en el programa de erradicación. Persiste el riesgo de Brucelosis humana en la provincia de Manabí, ante la presencia de ganados caprinos infectados con dicho mal.

En la actualidad AGROCALIDAD el responsable del control de la brucelosis caprina en ésta provincia; al igual que en otras zonas endémicas se están haciendo esfuerzos por alcanzar los mismo niveles en la educación sanitaria y la vigilancia epidemiológica. En el primer punto ha de tenerse en cuenta los patrones culturales en los cuales se vienen desarrollando las explotaciones caprinas ya que constituye un factor determinante. Para obtener datos epidemiológicos más fiables sobre la brucelosis caprina, es necesario conocer prevalencias de esta infección en áreas endémicas o en riesgo. El conocimiento del comportamiento

epidemiológico servirá de base para estar mejor enterado de la enfermedad en el país, colaborando así, con el programa de control y erradicación a crear áreas libres de la enfermedad y como consecuencia disminuir la incidencia de casos humanos en nuestro país. 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.

Por otro lado 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.

Seguido de la alimentación del ganado en campo abierto, que sumado 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. Cambiar estas prácticas también implica intensa intervención educativa, tarea más dificultosa de lograr en una población objetivo de bajo nivel de instrucción (Sbriglio *et al.*, 2007)

Por lo tanto se acepta La prueba serológica Rosa de Bengala revelara que La Provincia de Manabí en los Cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) existen un alto porcentaje de brucelosis caprina, debido a que encontramos un 6.33 % de brucelosis.

En los que respecta a la otra hipótesis: El pesquisaje serológico de la Brucelosis caprina representa una herramienta certera en la determinación de la prevalencia

y factores de riesgo zoonotico se acepta ya que se pudo determinar la seroprevalencia.

4.3. Pérdidas Económicas.

En lo que respecta a este objetivo para el cálculo de las pérdidas económicas por Brucelosis caprina, se incorpora dos aspectos fundamentales. Primero de abortos y la disminución de la producción de leche y carne. En el cuadro cuatro, se observan los resultados acerca de las pérdidas económicas que sufre el ganadero cuando una cabra aborta, se estima que en las ganaderías de los tres cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) de la Provincia Manabí, el productor deja de percibir \$ 180,00 por cada aborto, es por el precio del cabrito. A esto también se suma el costo de la reproductora de \$300.

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 animales 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 \$ 480 dólares.

Igualmente se debe considerar lo indicado por Monserrate y Zamora, (2011); quienes revelan 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 algunos otros autores en los antecedentes manifiestan que esta bacteria puede permanecer de por vida dentro del organismo del animal por lo tanto que se recomienda mandar el reactor positivo al camal.

Cuadro 4.- Estimación de la pérdida económica causada por el aborto epidemiológico de la brucelosis caprina (*Brucella melitensis*) en la provincia de Manabí en los cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre).

Item	Detalle	Cantidad	V. U.	Subtotales
1	Valor del cordero	1	180	180
2	Costo de la reproductora	1	300	300
Total				480

El costo del análisis de brucelosis para caprino con la prueba Rosa de Bengala es de \$ 3.0.

El bajo número de animales serorreactores a brucelosis caprina (19/300) encontrado en el presente estudio es un importante hallazgo, al constituirse como herramienta informativa sobre el comportamiento epidemiológico de la brucelosis caprina en los tres cantones de la provincia de Manabí; que por otro lado albergan a la mayor población caprina del Ecuador. Esto podría contribuir para que las autoridades sanitarias del Estado evalúen el éxito de sus programas establecidos y puedan en su momento declarar el área como libre de la enfermedad. Igualmente se debe considerar lo indicado por Monserrate y Zamora (2011); Palma (2013) y Defaz (2013), 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 algunos otros autores en los antecedentes manifiestan que esta bacteria puede permanecer de por vida dentro del organismo del animal por lo tanto que se recomienda mandar el reactor positivo al camal.

CAPÍTULO V.
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de la investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

1. La seroprevalencia general de anticuerpos de brucelosis en cabras obtenidas en el presente estudio está presente a la media nacional y está por debajo a la obtenida en estudios similares realizados con anterioridad.
2. Mediante la prueba de Aglutinación Rosa de Bengala, se determinó que la *Brucella melitensis* está presente en el ganado caprino muestreado en los tres cantones (Puerto López, Bolívar y Sucre) fue de 6.33%, con 19 casos positivo.
3. La sensibilidad y especificidad de esta prueba (Rosa de Bengala) fue de 6.33 y 93.67 % respectivamente
4. Las pérdidas económicas provocadas por la brucelosis en la provincia de Manabí fue de \$ 480, 00, esto es debido a que el gobierno a realizado la introducción de nuevo ejemplares.
5. El costo de análisis por animal fue de \$ 3,00.

VI. RECOMENDACIONES

Analizadas las conclusiones, se recomienda:

1. Con el fin de mantener el estado sanitario actual del ganado caprino de la provincia de Manabí y el país, se recomienda a los organismos estatales a extender el plan del programa de control y erradicación de la brucelosis caprina y que se incluyan vacunación, por ser considerado como área en riesgo de esta enfermedad.
2. Hacer PCR específico para *Brucella melitensis* para de esta manera conocer si son animales infectados por la bacteria o son portadores de una vacuna
3. 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 contagiado y recibir su tratamiento.
4. Al introducir animales de otra provincia o país al predio se debe realizar el análisis de laboratorio para prevenir la presencia de la enfermedad en la finca.

CAPÍTULO VI.
BIBLIOGRAFIAS

6.1. Bibliografía consultada

- Arias Y, Cárdenas B.** 2007. Diagnóstico de Brucelosis en ovinos con antígeno Rosa de Bengala al 3 y 8%. Rev. Unell. Cienc. Tec. 25: 40 – 43.
- Aréstegui, M; Gualtieri, C; 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: 21-10-2014].
- 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: 20-12-2014].
- Cutler, S., Whatmore, A, Commander, N.** 2005. Brucellosis – new aspects of an old disease. J Appl Microbiol 98, 1270-1281.
- 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].
- Defaz. S.** 2013. Prevalencia de brucelosis caprina (*Brucella melitensis*) en Santo Domingo de los Tsáchilas con la prueba rosa de bengala. Tesis de Grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. pp. 78
- .
- Fátima, M y Garrido, A.** 2002. Género *Brucella*. En: Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana Editores. Madrid, España. pp. 275 – 292.
- 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.

- INAMHI** (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA e HIDROLOGÍA). 2014. Base de datos: Precipitación Estación Manabí – Ec. Periodo de registro: 1964 - 2014.
- Mantur, B. y Amarnathe, S.** 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- 11-2014].
- 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
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).** 2009.. *Manual of diagnostic tests and vaccines*. Bovine brucellosis. Paris [serie de internet] 2004 [consultado 2014 diciembre 15]. Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00052.htm
- Palma. R.** 2013. 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. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador. pp. 78.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E.** 2005. Brucellosis. N Engl J Med; 352: 2325-36
- 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: 22-12-2014].
- Rodríguez, A.; Orduña, A.; Ariza Cardenal, X. et al.** 2001. Manual de brucelosis [en línea] <http://los.fish.69.googlepages.com/manualdebrucelosis.pdf> [Consulta: 22-12-2014].
- 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]

<http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota3_13.pdf > [Consulta: 21-12-2014].

Sarmantino, L. 2003. Conceptos generales sobre brucelosis bovina. Jornada de actualización sobre brucelosis bovina- Rocha, Argentina. 7pp

CAPÍTULO VII.

ANEXOS

Anexo 2. Fotografías de la investigación

Hatos ganaderos donde se tomó las muestras



Tomando muestras



Recolección de sueros.



Análisis serológico de las muestras de sangre.





