



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIO A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA INGENIERIA AGROPECUARIA

Proyecto de Investigación previo a la
obtención del Título de Ingeniero
Agropecuario

TEMA:

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA
(*Brucella Abortus*) EN LA PROVINCIA DE MANABÍ MEDIANTE LA PRUEBA
DE LA ROSA BENGALA.**

AUTOR:

ARIAS CAISAGUANO GUSTAVO ULICES

DIRECTOR:

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2013



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

UNIDAD DE ESTUDIO A DISTANCIA

MODALIDAD SEMIPRESENCIAL

CARRERA INGENIERIA AGROPECUARIA

Proyecto de Investigación previo a la
obtención del Título de Ingeniero
Agropecuario

TEMA:

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA
(*Brucella Abortus*) EN LA PROVINCIA DE MANABÍ MEDIANTE LA PRUEBA
DE LA ROSA BENGALA.**

AUTOR:

ARIAS CAISAGUANO GUSTAVO ULICES

DIRECTOR:

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2013



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIO A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA INGENIERIA AGROPECUARIA

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA
(*Brucella Abortus*) EN LA PROVINCIA DE MANABÍ MEDIANTE LA PRUEBA
DE LA ROSA BENGALA.**

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

APROBADO

Ing. Lauden Rizzo Zamora M. Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Geovanny Suarez Fernández M. Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Caril Arteaga Cedeño M. Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

Yo, **Ing. Orly Cevallos Falquez**. Director del Proyecto de investigación CERTIFICO: Que el egresado Arias Caisaguano Gustavo Ulices, realizó el proyecto de Investigación titulado: **DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (Brucella Abortus) EN LA PROVINCIA DE MANABÍ MEDIANTE LA PRUEBA DE LA ROSA BENGALA**, bajo mi dirección habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ.
DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Arias Caisaguano Gustavo Ulises, declaro ser el autor exclusivo del Proyecto de Investigación, es original, auténtica y personal.

Todos los efectos académicos y legales que se desprenden del presente Proyecto de Investigación son de mi exclusiva responsabilidad.

ARIAS CAISAGUANO GUSTAVO ULICES

C.I. 0910170612

DEDICATORIA

Dedico con todo mi amor el fruto de mi esfuerzo a Dios, mis queridos Padres, y a mi adorado esposo e hijos. A Dios por iluminarme en cada paso que doy, guiándome en todo momento con su infinita sabiduría por el camino correcto dándome la fuerza para seguir adelante, a mis padres, por ser un pilar fundamental, un ejemplo a seguir, siendo mí apoyo en todo momento, depositando su confianza en cada reto superado sin dudar ni un solo momento de mi capacidad. A mi esposa por su infinito apoyo, ya que con su paciencia me ha ayudado a culminar mi meta. Por ustedes soy lo que soy ahora, es por eso que este triunfo es suyo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco eternamente a Dios por ser esa fuerza que me empuja a dar lo mejor de mí cada día. A mis Padres por su apoyo incondicional, enseñanzas, y haberme brindado el valor para salir adelante y tener la oportunidad de brillar. A mi esposa por su forma incondicional de estar ayudándome a terminar este proyecto. A mi familia que me supo brindar el apoyo moral y espiritual en todo momento.

Mi agradecimiento especial al Ing. Orly Cevallos Falquez, por haber confiado en mí, por su paciencia y por la dedicación en dirección de este proyecto. A mis docentes y compañeros que me permitieron entrar en su vida durante estos años de convivir y de alguna manera con sus ejemplos fueron fuente de inspiración en mi vida.

Gracias a todas y cada una de las personas que participaron en la investigación realizada ya que invirtieron su tiempo y conocimientos para ayudarme a completar mi proyecto de Investigación.

INDICE GENERAL

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN	iii
TRIBUNAL DE TESIS	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
RESUMEN	x
SUMMARY.....	xi
CAPITULO I: MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1. INTRODUCCIÓN	2
1.2. OBJETIVOS	4
1.2.1. Objetivo General	4
1.2.2. Objetivos Específicos	4
1.3. HIPOTESIS	4
CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Brucelosis.....	6
2.1.1. Brucelosis bovina	6
2.2.2. Epidemiología	6
2.1.3. Patogenia	8
2.1.4. Transmisión.....	11
2.1.5. Resistencia.....	12
2.1.6. Prueba de Rosa de Bengala (R.B.).....	13
2.1.7. Pérdidas económicas	14
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Localización y duración del experimento	17

3.2.	Materiales y equipos	17
3.2.1.	Material	17
3.2.2.	Equipos de Laboratorio	18
3.3.	Protocolo	18
3.3.1.	Introducciones.....	18
3.3.1.1.	Manejo del Antígeno	18
3.3.1.2.	Aglutinoscopio.....	18
3.3.1.3.	Pipetas	19
3.3.1.4.	Goteros	19
3.3.2.	Técnica de la prueba en Placa.....	19
3.3.3.	Lectura de la prueba en placa.....	21
3.3.3.1.	Los signos utilizados para la interpretación de los resultados	22
3.4.	Metodología	24
3.4.1.	Campo	24
3.4.2.	De laboratorio.....	24
3.4.3.1.	Método de análisis estadístico	25
3.4.3.	Factores de estudio.....	25
3.4.4.	Análisis Porcentual de prevalencia de brucelosis bovina	25
3.4.5.	Prevalencia de brucelosis bovina de la raza criolla y europea (Brown Swís, Jersey, Holsteing.)	26
3.4.6.	Determinación de las pérdidas económicas.....	26
3.4.7.	Método de análisis estadístico	26

CAPITULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

.....	28	
4.1.	RESULTADOS.....	29
4.1.1.	Análisis Porcentual de prevalencia de brucelosis bovina	29
4.1.2.	Prevalencia de brucelosis bovina de la raza criollo y europea	31
4.1.4.	Determinación de las pérdidas económicas.....	32
4.1.5.	Medir la sensibilidad y especificidad de la pruebas de Rosa de Bengala.....	33
4.2.	Discusión	35

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES	38
5.1. CONCLUSIONES	39
5.2. RECOMENDACIONES	40
CAPITULO VI: BIBLIOGRAFIA.....	41
6.1. BIBLIOGRAFÍA	42
CAPITULO VII: ANEXOS.....	45

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1; Cantidades de suero anígeno y diámetro.....	18
Cuadro 2: Interpretación de los resultados	21
Cuadro 3: Resultados y porcentajes de bovinos a la prueba de Rosa de Bengala, en IVlanabí. 2013.....	30
Cuadro 4: Estimación de la pérdida económica causada por el aborto producido en Manabí. 2013.....	32
Cuadro 5: Costo de las pruebas para el diagnóstico de brucelosis en bovino. Laboratorio de biotecnología. UTEQ. Quevedo, 2013	34

RESUMEN

El presente trabajo de investigación sobre brucelosis bovina se realizó en la provincia de Manabí y su análisis se lo ejecuto en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo El objetivo general de esta investigación fue: Determinar el porcentaje de la *Brucella abortus* en bovino criollo, en la provincia de Manabí mediante la prueba serológica Rosa de Bengala. En este estudio se estipulo el porcentaje de brucelosis en bovino de la raza criolla y europea, en hatos con prevalencia histórica y también se determinó 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 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.

SUMMARY

The present research was conducted on bovine brucellosis in the province of Manabí and analysis would run in the Biotechnology Laboratory of State Technical University Quevedo the overall objective of this research was to determine the percentage of *Brucella abortus* in cattle Creole in the Manabí province by the serological Rose Bengal. In this study we stipulate the percentage of bovine brucellosis in the Creole and European historical prevalence in herds and also determined the sensitivity and specificity of the Rose Bengal (RB). To determine the degree of prevalence of brucellosis, we sampled a total of 334 cattle (167 European and 167 native), positivism was reached, 19 (11.37%), 148 (88.63%) negative, but not in the European race which was 30 (17.96%) of positive, 137 (82.04%) were negative. The test revealed a Rose Bengal (14.63% sensitivity and 85.37% specificity). The results show that the detection of positive animals by Rose Bengal test was specific and sensitive, so the test can be a useful tool in the diagnosis of *Brucella abortus* and eradication program. There remains the risk of human brucellosis in the province in the presence of cattle infected with the disease and if no action is taken may become infected by consuming milk and dairy product pausterizado bad. Finally we analyzed the economic losses per cow that aborts which was \$ 520.

CAPÍTULO I

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una de las cinco zoonosis bacterianas más comunes en el mundo, producida por una bacteria de vida endocelular facultativa, de gran impacto tanto en la salud pública como en la producción pecuaria. Afecta la economía de los países que aún no la han podido erradicar y produce pérdidas económicas en la industria pecuaria, por la disminución en la producción de carne como consecuencia de los abortos, nacimientos de crías débiles, muerte perinatal de terneros, lechones, chivitos, menor producción de leche, disminución de la fertilidad, esterilidad.

En países de Sudamérica, la *Brucella abortus* presenta una mayor prevalencia en animales de ganado lechero, con valores que oscilan entre 0.1% y 20.30%. Se calcula que las pérdidas económicas causada por la *Brucella* bovina en América ascienden a 270 millones de dólares norteamericano; esta estimación se basa en la pérdida de producción de crías (47%), producción de leche (41%), y costo de reposición (12%). (Rivera *et al*, 2003). En el Ecuador., se le considera a la brucelosis como el principal problema en la reducción de la producción de leche y carne con pérdida que van más allá \$ 3000.000 anual (Sesa, 2002).

Aunque la prevalencia de esta enfermedad infecciosa es variable, se calcula que las enfermedades de tipo reproductivo zoonótico son la mayor amenaza. En este sentido la comunidad científica cataloga a la brucelosis (*Brucella abortus*) como una de las zoonosis más importantes en el mundo (Dajer *et al.*, 1998).

El Servicio de Información y Censo Agropecuario (Sesa) del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador a través del Tercer Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2002, en nuestro país existen alrededor de 4' 486.021 unidades bovinas, siendo Manabí la provincia donde se encuentra el mayor número de cabezas de ganado de todo el país con explotaciones dedicadas a la producción de carne y leche lo que estima un aproximado de 783.592 cabezas. El manejo sanitario que se lleva a cabo en los diferentes

datos de los referidos lugares es inadecuado, lo que estaría favoreciendo la proliferación de este germen, que además de producir estragos en los animales en los que se encuentra presente, puede en cualquier momento desencadenar una epidemia en los seres humanos, por tratarse de una enfermedad zoonosica.

El diagnóstico de la brucelosis es relativamente complejo porque la fase de incubación es variable, promete pocos síntomas clínicos como el aborto, reducción en la producción de leche, nacimiento de crías débiles. Por esta razón el diagnóstico debe basarse en una combinación de prueba serológica y la prevalencia histórica del rebaño, esta enfermedad infectocontagiosa, aguda y crónica, caracterizada por el aborto en la hembra al final de la gestación, el mismo que sobreviene especialmente en los últimos meses de gestación, es un síntoma que hace pensar en la infección por brucelosis y cifras elevadas de infertilidad, además, se puede presentar retención placentaria (Homedes, 1963).

La prueba serológica es una ayuda valiosa siempre que se la efectúe discretamente y se diluciden con toda la información epidemiológica que pueda conseguirse. Hay que tener en estadística que, una prueba negativa única no basta para decir que el animal no está infectado o que ha estado expuesta, ya que puede corresponder a un periodo de prelatencia antes del desarrollo de una respuesta serológica. La exactitud del diagnóstico de un animal dependerá de la caracterización segura del mismo y de la muestra de sangre, de su adecuada extracción y envío al laboratorio y de la información que permite ubicar al hato de origen, además del trabajo del laboratorio en sí.

La prueba Rosa de Bengala (RB) es una técnica rápida de aglutinación en placa que se considera igual como técnica para el diagnóstico inicial de la brucelosis y como de screening por su rapidez y bajo costo. (Díaz, 2001).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

- Determinar el porcentaje de la *Brucella abortus* en bovino criollo, en la provincia de Manabí mediante la prueba serológica Rosa de Bengala.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Analizar la sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala.
- Determinar el porcentaje de prevalencia de brucelosis bovina en ganado criollo en la provincia de Manabí mediante la prueba serológica Rosa de Bengala
- Determinar el costo de la prueba serológica por animal

1.2. HIPÓTESIS

- La prueba serológica Rosa de Bengala revelara que en la provincia de Manabí existen un alto porcentaje de brucelosis en bovinos.
- La alta sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala, permitirá el empleo en zonas de baja prevalencia, reduciendo los costos en el pesquisaje serológico de la Brucelosis bovina y representa una herramienta certera en el estudio de focos de la enfermedad.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Brucelosis

2.1.1. Brucelosis bovina

La brucelosis bovina es una enfermedad contagiosa del ganado bovino, También se trasmite al hombre. Produce abortos, retención de placenta y producción de crías débiles. El Agente Causal es la bacteria *Brucella abortus*. Se ubica intracelularmente por lo que no es posible eliminarla del organismo con el uso de antibióticos es sensible al medio ambiente, con los desinfectantes comunes muere fácilmente; (Boffil *et al.*, 1989).

El animal infectado contamina el ambiente con las secreciones vaginales pre parto, el feto o el aborto están altamente contaminados, la leche es una vía de salida de la bacteria, las secreciones pos parto pueden contaminar por 1 o 2 meses. Las vaquillas y vacas sanas se infectan principalmente por vía digestiva, al lamer secreciones de abortos, o comer pasto contaminado. Las terneras hijas de vacas infectadas pueden contraer la enfermedad vía tras placentaria. Las vaquillas son más sensibles que las vacas y las hembras gestantes son más propensas a infectarse. El germen se disemina ubicándose en el feto en las hembras gestantes y en la glándula mamaria. (Corbel, 1997).

El único síntoma visible es el aborto espontaneo que se produce en el último tercio de la preñez. Puede ser diagnosticada por pruebas serológicas que detectan la presencia de anticuerpos. Las hembras que adquieren el contagio pueden presentar sobrerreacción 6 semanas a 6 meses después. (Corbel, 1997).

2.1.2. Epidemiología

La enfermedad presenta diferentes tasas de incidencia y prevalencia de acuerdo a los países y las diferentes regiones. La brucelosis bovina es aún una enfermedad muy extendida en algunos países de África, Asia, América y Europa (fundamentalmente Rusia). Las especies de *Brucella* difieren marcadamente en su capacidad de producir enfermedad en el hombre. *B. melitensis* es la más patógena y está emergiendo como un serio problema en la Salud Pública de los países en desarrollo, mientras que *B. abortus* está asociada con una infección menos frecuente y en mayor proporción en casos subclínicos. (Boffil *et al.*, 1989).

En Ecuador la *Brucella abortus* es la principal causa de brucelosis en el hombre, siendo *B. canis* la menos importante. La infección en seres humanos depende de los reservorios animales y se produce usualmente, por la exposición de tipo ocupacional o por el contacto con animales infectados, sus carcasas, o debido al consumo de productos contaminados. (Sesa, 2002).

La respuesta inmune de los bovinos ante la infección o vacunación con *B. abortus*, revierte gran importancia para el diagnóstico y vigilancia de la enfermedad. Los isótopos de inmunoglobulinas que intervienen en la respuesta inmune contra *Brucella abortus* son las inmunoglobulinas M (IgM), inmunoglobulinas G (IgG) e inmunoglobulinas A (IgA). (Cortina y Fernández, 1991).

Unas de las características más importantes de estas son:

IgM.

- No atraviesa la placenta
- Es termolábil
- Sensible al mercaptoetanol
- Es aglutinante
- Fija el complemento

IgG.

- Atraviesa la placenta.
- Termoestable hasta 60 °C
- Resistente al mercaptoetanol
- Fija muy bien el complemento

IgA.

- No atraviesa la placenta
- No fija el complemento
- Abundante en la leche

2.1.3. Patogenia

El género *Brucella* se caracteriza por ser un parásito intracelular facultativo. Es importante considerar esta característica en el estudio de la patogenia, patología, manifestaciones clínicas y control de la enfermedad. Las brucellas pueden ingresar al organismo a través de las mucosas, siendo la vía oral la de mayor frecuencia por la ingestión de productos animales contaminados, aunque también pueden acceder a través de la vía conjuntival y a erógena mediante aerosoles. Puede ocurrir infección fetal en distintos períodos de la gestación (infección congénita), o en el recién nacido (infección neonatal) a través del calostro, leche o el medio ambiente. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

Cuando ocurre infección transplacentaria antes del establecimiento de los mecanismos que determinan la auto-tolerancia natural hacia los antígenos propios, si no ocurre muerte fetal o aborto, los recién nacidos pueden quedar persistentemente infectados sin generar respuesta inmune contra la *Brucella* (animales inmunotolerantes), comportándose como reservorios y fuente de infección.

Si la infección ocurre después del establecimiento de los mecanismos de reconocimiento o durante el período neonatal, las hembras, a pesar de no dar evidencias clínicas de la infección y ser seronegativas a las técnicas de detección de brucelosis en el momento del servicio, pueden reactivar la infección durante la gestación y pueden abortar y/o ser portadoras con eliminación de *Brucellas*, al igual que sus crías. Una explicación, al menos parcial, de este fenómeno podría estar dada por el aumento durante la gestación del eritritol, potente factor de replicación en la mayoría de las especies domésticas, a excepción del hombre. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

Después de penetrar el organismo, los microorganismos son rápidamente fagocitados. *Brucella* sobrevive y se multiplica en las células fagocíticas e inhibe los mecanismos bactericidas. El SFM es utilizado por la bacteria como medio para su diseminación y persistencia. Durante el curso de la infección, los fagocitos profesionales son los primeros blancos para la invasión de *Brucella*, a

pesar de su tropismo por los órganos sexuales, esta bacteria puede encontrarse en huesos, articulaciones, ojos y cerebro.

Las cepas lisas de *B. abortus* se replican intracelularmente más eficientemente que la cepa 19 o las cepas rugosas. A pesar que el compartimento celular donde la bacteria se replica o es destruida es aún un punto de debate, se ha sugerido que en los trofoblastos de los animales preñados, como en las células Vero, se multiplica en el retículo endoplásmico rugoso (RER) y es transferida desde los fago-somas al RER.

Las Brucellas virulentas necesitan evadir la fusión del fago-lisosoma para multiplicarse dentro de los fagocitos profesionales y no profesionales. La eficiencia en la replicación endocelular parecería ser independiente de la adherencia. La cadena O del LPS ha sido implicada como una molécula clave en la sobrevivencia endocelular. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

El periodo de incubación oscila de 2 a 3 semanas, pero puede ser mayor (300 días o más) dependiendo del tamaño del inóculo y la vía de infección. Después del ingreso al organismo, los microorganismos son rápidamente fagocitados. La *Brucella* sobrevive y se multiplica en las células fagocíticas e inhibe los mecanismos bactericidas. El SFM es utilizado por la bacteria como medio para su diseminación y persistencia. Las bacterias una vez que atraviesan la puerta de entrada alcanzan la vía linfática y se multiplican en los ganglios regionales. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

Posteriormente pueden diseminarse por vía hematológica y localizarse en los órganos del SER, especialmente en ganglios, hígado, bazo, médula ósea y riñón, desde los ganglios linfáticos regionales de la ruta de penetración de la bacteria, la misma es transportada por los macrófagos hacia los órganos reproductivos, ganglios linfáticos, bazo, hígado y médula ósea. (Figura 1).

Después del establecimiento de los mecanismos de reconocimiento antigénico o durante el período neonatal, si ocurriese la infección, las hembras, a pesar de

no manifestar clínicamente la enfermedad y encontrarse negativas a las técnicas serológicas de diagnóstico en el momento del servicio, pueden reactivar la infección durante la gestación.

Si no abortaran podrían quedar como portadoras eliminando *Brucellas*, al igual que sus crías. Una explicación al menos parcial de este hecho estaría dada por el aumento del eritritol placentario, potente factor de replicación en la mayoría de las especies domésticas. La presencia de eritritol en los testículos, glándulas seminales, y en los tejidos embrionales y fetales, estimula la multiplicación de la *Brucella*. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

En las infecciones crónicas, la bacteria se localiza en el útero, glándula mamaria, testículos, glándulas sexuales masculinas accesorias y ganglios linfáticos. El género *Brucella*, expresa su tropismo por diferentes órganos y tejidos (placenta, glándula mamaria, órganos sexuales, articulaciones, bolsas sinoviales, pulmón y abomaso fetal) con periodicidad desconocida. Finalmente se excreta en exudados uterinos, fetos abortados, leche, semen y orina. De esta manera, completa el ciclo infeccioso y posibilita el inicio de otros. (Arestegui y Gualtieri, 2005).

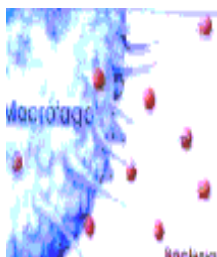


Figura 1. Patogenia de la Brucelosis Bovina

2.1.4 Transmisión

Como fuentes de infección se plantean los fetos, envolturas fetales y descargas vaginales que contienen gran número de microorganismos pertenecientes al género *Brucellas* (Boffilet *al.*, 1989), además de las heces fecales, leche y el esperma de los toros. Tienen también un significado trascendental los alimentos de origen animal, productos y subproductos de matadero no procesados correctamente. (Bathke, 1981). La vía de penetración más importante es el tracto gastrointestinal por ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas (Boffil y 1989), además de la costumbre de las vacas de lamer otros animales y superficies contaminadas (Bathke, 1981).

Cotrina y Fernández en 1991 planteó que la *Brucella* penetra al organismo por las membranas mucosas, considerando la conjuntiva como vía más común. En la transmisión mecánica se señalan los perros y animales de rapiña que llevan fetos y envolturas fetales a lugares no afectados, sin dejar de mencionar al hombre. La transmisión vertical-horizontal se plantea en un 5% y el semen de toros infectados desempeña un papel importante en la transmisión (Cotrina y Fernández, 1991).

Como fuentes de infección se plantean los fetos, envolturas fetales y descargas vaginales que contienen gran número de microorganismos pertenecientes al género *Brucellas* (Boffil et al., 1989), además de las heces fecales, leche y el esperma de los toros. Tienen también un significado trascendental los alimentos de origen animal, productos y subproductos de Matadero no procesados correctamente. (Bathke, 1981).

La vía de penetración más importante es el tracto gastrointestinal por ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas (Boffil, 1989), además de la costumbre de las vacas de lamer otros animales y superficies contaminadas (Bathke, 1981).

2.1.5. Resistencia

La edad, sexo, tiempo de gestación y la resistencia natural a la enfermedad pueden influenciar la evolución de la infección. Las terneras nacidas de hembras infectadas usualmente son cero negativas a *Brucella* por un largo período (Bercovich, 1998). Debido a que el tiempo de gestación al momento de la infección determina el período de incubación, el aborto en bovinos causado por *B. abortus* raramente ocurre antes del cuarto o quinto mes de gestación (Bercovich, 1998). Las hembras preñadas son más susceptibles a contraer la enfermedad que las no preñadas o los machos. Esto sucede porque el útero grávido facilita el crecimiento del microorganismo (Crawford *et al.*, 1990). Además, el curso e incidencia de la enfermedad son también influenciados por la resistencia natural a la infección con *Brucella* (Bercovich, 1998).

2.1.6. Prueba de Rosa de Bengala (R.B.)

Se trata de una aglutinación en portaobjetos, con antígenos acidificados utilizada como un método rápido de descarte (screining). Es muy sensible, siendo positiva en un 95-99% de los casos, guarda una buena correlación con la cero aglutinación. (Abarca y Martin, 1995).

Según Alton *et al.*, 1976, la Rosa de Bengala es en realidad una modificación de la prueba de la tarjeta empleada en E.U.A. y las variaciones en cuanto a su sensibilidad se deben a modificaciones introducidas por diversos laboratorios. Una de las dificultades que se ha señalado a la prueba es la falta de estandarización internacional del antígeno lo que impide que los resultados obtenidos en diferentes países sean comparables. (Argonte, 1984), además de su extrema sensibilidad en animales vacunados con la Cepa 19 (Cotrina y Fernández, 1991).

Abeledo en 1981, en un estudio comparativo entre la RB y SAL, obtuvo mayor sensibilidad en la primera frente a animales enfermos y una mayor especificidad en población sana, recomendando la misma en la vigilancia epizootológica en territorios libres de la enfermedad.

Jacobo en 1985 y Pfeifter en 1986 recomendaron emplearla como método de pesquiasaje atribuyéndole una sensibilidad semejante a la conferida por la R.F.C. En algunos sueros los resultados de la R.B. y la R.F.C. son positivos cuando la S.A.L. es negativa o tienen menos de 30 UI/mL. (Jacobo en 1985)

Varios investigadores han señalado la alta sensibilidad y especificidad de la Rosa de Bengala lo que unido a su fácil manipulación y rápida lectura hacen que la misma sea de gran utilidad en el diagnóstico masivo de la Brucelosis. De este modo Plommet en 1972 y Priadi en 1992 recomendaron su utilización en el programa de control y erradicación de la Brucelosis por ser simple, fiel y económica.

La RB es muy utilizada para el diagnóstico de la brucelosis porcina pues tiene la

ventaja de que en pjaras con títulos bajos e inespecíficos a la aglutinación, los resultados son negativos. Se considera uno de los procedimientos más prácticos para el diagnóstico de Brucelosis porcina (Cortina y Fernández, 1991). Samartino *et al* 1997, aplicaron la técnica del antígeno buferado en placa (BPA) como prueba tamiz en el diagnóstico de la Brucelosis y obtuvieron mayor sensibilidad al compararla con la Rosa de Bengala aunque las dos fueron determinante para la condición de animal reaccionante. (Rahway, 1993)

2.1.7. Pérdidas económicas:

Las principales pérdidas económicas se basan en los síntomas y lesiones que produce la enfermedad:

- Abortos de vacas, especialmente en el primer tercio de gestación, generalmente acompañados de retención placentaria y endometritis.
- Infertilidad en los animales afectados.
- Baja de la producción de leche en los hatos ganaderos.
- Descarte de animales enfermos.
- Baja de la productividad del ser humano afectado, como consecuencia a la sintomatología crónica.
- Costos por cuidados médicos.

La prueba Rosa de Bengala es capaz de detectar anticuerpos específicos del tipo IgM e IgG y es más efectiva en la detección de anticuerpos del tipo IgG1 que aquellos del tipo IgM o IgG. La prueba puede dar resultados negativos en vacas infectadas que resultan positivas a la fijación del complemento, aunque el pH bajo del antígeno mejora la especificidad del test, la sensibilidad y especificidad esta técnica puede estar influenciada por la temperatura del antígeno y del ambiente donde se desarrolla la técnica. Esta prueba emplea el principio de interacción de los anticuerpos con antígenos produciendo una reacción de tipo secundario, visualizado por la formación de redes de aglutinación. (Sandoval, 2007).

Existen muchos casos de brucelosis bovina encontrados en el Ecuador y principalmente en la provincia de Manabí como el reportado. En los que reportó en análisis realizados por el método de cero aglutinación en placas en un total de 800 casos en los cantones de Chone, Rocafuerte y Bolívar tuvo un porcentaje de 11.3% y 20% sospechosos estableciendo un alto porcentaje de la enfermedad en la provincia de Manabí. (Plaza, 1970)

En el Cantón Bolívar, Provincia de Manabí, utilizando el método de cero aglutinación, los resultados fueron de 0.89 % de casos positivos de un total de 608 muestras recolectadas y analizadas. (Brito y Gonzales 2001)

Se determinó la prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Jama, provincia de Manabí, utilizando la prueba de Rosa de Bengala, con un resultado del 3 % de 400 bovinos analizados. (Casanova A. 2003)

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y duración del experimento

La presente investigación se realizó utilizando el ganado criollo y europeo (BrownSwis, Holsteing, jersey e brahmán) que están localizados en los 22 cantones y se tomaron 5cc de sangre por individuos adultos que dan un total de

334 animales (167 bovino criollo y 167 bovino de las razas europeas). Esta investigación tuvo una duración de cuatro meses.

3.2. Materiales y equipos.

3.2.1. Material

Como material se utilizó los bovino criollo y de raza europea provenientes de los diferentes cantones de la provincia de Manabí

De campo	Cantidad
▪ Bovinos	334
▪ Tubos vacutainer (tapa roja)	334
▪ Jeringuillas de 5 ml.	334
▪ Gel refrigerante (pilas)	2
▪ Termo	1
▪ Tablero	1
▪ Esferográficos.	1
▪ Lápiz	1
▪ Hojas de registro para la toma de muestras.	334
▪ Guantes	1/ caja
▪ Etiquetas.	334
▪ Mapas.	1
▪ Gradillas.	5
▪ Vestimentas (overol, botas)	2
▪ Cintas Scott	2
▪ Fundas plásticas	1/ docena

3.2.2. Equipos de Laboratorio

▪ Computador	1
▪ Refrigeradora	1
▪ Estufa	1
▪ Centrífuga	1
▪ Antígeno Rosa de Bengala	2/frasco

▪ Reloj	1
▪ Epenndor	400
▪ Gasa	1
▪ Alcohol 90 grados	2/litro.
▪ Micro-pipeta	2
▪ Punta amarilla	1000
▪ Mandil	1
▪ Toallas	2/ paquetes
▪ Guantes	1/ docena
▪ Mascarilla	1/ docena
▪ Agua destilada	1/ litro.

3.3. Protocolo

La prueba de aglutinación en placa para el diagnóstico de Brucelosis ha demostrado su eficacia como prueba a campo y sus resultados son comparables a otras pruebas de Laboratorio cuando su técnica de ejecución e interpretación se realizan según normas estándar internacionales.

3.3.1. Introducciones

3.3.1.1. Manejo del Antígeno

Debió conservarse a temperatura entre 4-8 grados centígrados. Si por accidente se congelara debe ser eliminado. Cuando no se utiliza debe permanecer tapado pues la evaporación o la introducción de elementos extraños modifica su concentración desvirtuando los resultados. Sueros y antígenos deben ser utilizados a temperatura ambiente (Alton et al., 1969 y OMS, 1971).

3.3.1.2. Aglutinoscopio.

Fabricado en madera. Medidas: largo 45 cm. Ancho 35 cm., alto cm. Con visera de 13 cm. en la parte anterior. Para evitar la evaporación de las pruebas es conveniente colocarle tapa (marco y vidrio). La placa (vidrio) estará dividida en

cuadrados de 4 x 4 cm., medida muy importante para permitir la extensión y diámetro de cada dilución, debajo de la visera llevará una fuente de iluminación. De esta forma la luz fue incidente y permite una buena lectura.

3.3.1.3. Pipetas

Debe utilizarse pipetas aforadas especiales con divisiones para cada dilución o en su efecto una pipeta Kant de 0.2 ml. dividida en centésimas. Deben desecharse las pipetas con la punta rota.

3.3.1.4. Goteros

Para agregar el antígeno deben utilizarse goteros calibrados que liberen 0.03 ml. El uso de estos goteros es muy importante para mantener la relación antígeno-anticuerpo.

3.3.2. Técnica de la prueba en Placa

1. El vidrio (placa) previamente limpio debe ser perfectamente desengrasado cada vez con alcohol 96° y bien secado, esto evita que las diluciones modifiquen su diámetro y se deformen (ver cuadro No. 1).
2. Colocando la pipeta en ángulo de 45° con respecto a la placa y tocando el vidrio, descargar las cantidades de sueros correspondientes a cada dilución utilizando una fila de cuadrados de arriba abajo (ver cuadro No. 1).
3. Con el gotero calibrado y previa agitación del frasco para homogenizar el antígeno, descargar en posición vertical, una gota de antígeno para cada cuadrado con suero.
4. Con un palillo se mezcló el suero y antígeno varias veces sin modificar el diámetro y luego se trata con movimientos circulares de llegar a los diámetros correspondientes (ver cuadro No. 1) se comienza a mezclar de abajo hacia arriba es decir de la dilución mayor a la menor.

Cuadro.1. Cantidades de suero antigéno y diámetros

Dilución	Cantidad de suero	Cantidades de antígenos	Diámetros
1/25 mm.	0,08 mL	0,03 mL	27 mm.
1/50 mm.	0,04 mL	0,03 mL	24 mm.
1/100 mm.	0,02 mL	0,03 mL	21 mm.
1/200 mm.	0,01 mL	0,03 mL	18 mm.
1/400 mm	0,005mm	0,03 mL	15 mm.

5. Se tomó la placa y se hace un suave movimiento de rotación 5 vueltas a la derecha y 5 a la izquierda.
6. Se vuelve a colocar la placa en el aglutinoscopio y este es el momento que se toma como comienzo de la prueba. A contar de aquí se cuentan los ocho (8) minutos que dura la prueba.
7. Transcurridos cinco minutos de la iniciación de las pruebas se vuelve a rotar la placa 3 veces en cada sentido. Se apoya la placa en el aglutinoscopio y se espera que transcurra los tres minutos restantes para hacer la lectura.

3.3.3. Lectura de la prueba en placa

Transcurridos los ocho minutos se procede a la lectura. Para ello se enciende la luz, se inclina la placa hacia delante y luego lentamente hacia atrás fijándose atentamente en el sedimento que deja la prueba al correr de delante a atrás.

Dicho sedimento se interpreta a así en cada dilución:

- Líquido uniforme sin grumos, reacción negativa (-).
- Líquido no tan uniforme, pequeños o medianos grumos, reacción incompleta (I).
- Líquido límpido, grandes grumos, reacción positiva (+).

La práctica continuada de la prueba ejercita para la buena y justa lectura. La técnica antes descrita corresponde al estándar internacional y garantiza resultados comparables con otras pruebas serológicas de estricta exactitud pero complicado mecanismo de ejecución.

3.3.3.1. Los signos utilizados para la interpretación de los resultados

La nomenclatura utilizada en el diagnóstico serológico, tiene carácter de internacional. Como difiere de la habitualmente usada en Ecuador, es conveniente modificarla y adoptar aquella.

- Las cruces con que se cuantifica cada dilución significan intensidad de reacción y no identificación de título aglutinante.

Así, una muestra de suero puede merecer una, dos, tres o cuatro cruces, en cada dilución, de acuerdo al tamaño de los grumos y la limpidez del líquido intermedio por ejemplo:

1/25 ++ Grumos apenas perceptibles, líquido turbio

1/25 ++ Grumos más grandes, líquido menos turbio

1/25 +++ Grumos algo más grandes, líquido menos turbio aún

1/25 ++++ Grumos bien grandes, líquido límpido.

Así para todas las diluciones: 1/50 – 1/100 – 1/200 – etc. Ver cuadro 2.

La posibilidad de determinar si una dilución es reaccionante a 1 – 2 – 3 cruces, es subjetiva, depende del observador y puede dar lugar a controversias, razón por la cual esa intensidad de reacción se ha resuelto representarla con la letra “i” que significa reacción incompleta y cuando se trata de una reacción 4 cruces se representa con el signo () como reacción completa. La práctica continuada de la prueba ejercita para una buena y ajustada lectura. La técnica antes descrita, corresponde al estándar Internacional y seguirla estrictamente garantiza resultados comparables con otras pruebas serológicas de especifica exactitud, pero complicado mecanismo de ejecución.

Cuadros 2. Interpretación de los resultados

Bovinos no vacunados o vacunados después de los 8 meses

01/25	1/50	1/100	1/200	RESULTADOS
-	-	-	-	Negativa
	-	-	-	Negativa
+	-	-	-	Negativa
+		-	-	Sospechosa
+	+	-	-	Sospechosa
+	+		-	Sospechosa
+	+	+	-	Positiva
+	+	+		Positiva
-	-	-	-	Negativa
	-	-	-	Negativa
+	-	-	-	Negativa
+		-	-	Negativa
+	+	-	-	Negativa
+	+		-	Sospechosa
+	+	+	-	Sospechosa
+	+	+		Sospechosa
+	+	+	+	Positiva
+	+	+	+	Positiva

Bovinos vacunados a los 3 – 8 meses después de los 30 meses de edad

Bovinos vacunados a los 3 – 8 meses después de los 30 meses de edad

(|) Reacción Incompleta; (+) Reacción Completa; (-) Reacción Negativa

3.4. Metodología

3.4.1. Campo

Se realizó planificaciones y cronogramas de trabajo previos a las visitas a las explotaciones ganaderas. Los animales utilizados para la investigación fueron a nivel de cada finca de acuerdo al número de muestras que designe para cada cantón. Se extrajeron de la vena coccígea media o yugular, 5 ml por animal. Una vez tomada la muestra se identificó para posteriormente transportarla al laboratorio de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. La sangre extraída se dejó reposar por unos minutos luego se tomó el suero, este suero se congeló.

3.4.2. De laboratorio

Se utilizó el método de aglutinación rápida con antígeno de *Brucella* en Rosa de Bengala. Se prefiere este método por la seguridad de los resultados, por lo fácil de ejecutar y por su economía, con esta prueba se detectara los animales infectados.

En el laboratorio se utilizó el aglutinoscopio, que es una caja de madera con un foco y una placa de vidrio con varios cuadrantes, se lavó con desinfectante, enjuagó y se secó, se desinfecto con alcohol, por último se secó con toallas absorbentes.

Una vez preparado todos los materiales a utilizar, con una pipeta de Pasteur se tomó de los tubos de ensayo, que contienen suero sanguíneo, una gota equivalente a 0,03 mL, la misma que se colocó en cada cuadrante, donde posteriormente, con otra pipeta, se cogió el antígeno Rosa de bengala (la misma cantidad), el mismo que estuvo fuera de refrigeración por 15 minutos antes de la prueba.

El antígeno se depositó encima de la gota de suero sanguíneo para luego proceder a homogenizar utilizando un mondadientes. Después se cogió la placa de vidrio del aglutinoscopio para realizar ligeros movimientos circulares de derecha a izquierda y viceversa, se dejó reposar aproximadamente de 3 a 5

minutos para observar a través de la luz artificial, si existe o no aglutinación, si existe aglutinación (grumos) de la muestra es positiva caso contrario será negativa. Se monitoreó 360 animales.

3.4.3. Factores de estudio

Se analizó hembras adultas de 24 meses en adelante

3.4.3. 1. Método de análisis estadístico

Se aplicó medidas de tendencia central y de dispersión con histogramas de frecuencia.

3.4.4. Análisis Porcentual de prevalencia de brucelosis bovina

En la interpretación de los análisis se consideró los resultados positivos y negativos.

Como positivos se consideró cuando la muestra se presentó con grumos. Para los cálculos de prevalencia de brucelosis bovina, se aplicó la siguiente fórmula:

Fórmula

Sensibilidad

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

Para determinar el grado de prevalencia de la brucelosis en la provincia de Manabí a la cual incluyo la ubicación geográfica de las ganaderías, el área, número de animales, estado sanitario relacionado con el tamaño de los hatos, toma de muestra (sangre), conocimiento de la brucelosis, abortos en los hatos, número de abortos ocurrido.

3.4.5. Prevalencia de brucelosis bovina de la raza criolla y europea (Brown Swis, Jersey, Holsteing.)

Sobre los casos positivos se realizó un análisis de la prevalencia por las dos razas, también se pudo determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba rosa de bengala.

- Medir la sensibilidad y especificidad de la pruebas de Rosa de Bengala.

Formulas.

Sensibilidad

$$= \frac{\text{Positivo}}{\text{Positivo} + \text{falso negativo}} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Negativo}}{\text{Negativo} + \text{falso positivo}} \times 100$$

3.4.6. Determinación de las pérdidas económicas.

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

3.4.7. Método de análisis estadístico

Método Porcentual

Los casos positivos fueron evaluados mediante la prueba o paramétrica para una sola muestra, Prueba de Chi Cuadrado, cuya fórmula matemática es:

$$\chi^2 = (\text{Fo} - \text{Fe})^2 / \text{Fe}$$

En donde:

χ^2 = Chi Cuadrado

Fo = Frecuencias observadas.

Fe = 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:

Sensibilidad

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

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

CAPITULO IV.
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

El presente trabajo de investigación sobre “Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia de Manabí mediante la prueba rosa de bengala”, expone los siguientes resultados.

La ganadería de la provincia de Manabí disponen de recursos favorables para la implementación de la actividad ganadera; sin embargo, los índices de producción se ven afectados por varios factores como el inadecuado manejo de especies forrajeras, el injusto manejo sanitario de los animales donde se tiene poca información de las principales enfermedades infectocontagiosas y zoonóticas, que se encuentran presentes en el sector y que afecta a la economía de los ganaderos, y a la salud humana es la brucelosis que esta difundida en toda la provincia y el país.

4.1. Análisis Porcentual de prevalencia de brucelosis bovina

Del total de 255237 unidades bovinas, que constituye la población de ganado bovino criollos en toda la provincia de Manabí, según el último censo agropecuario, de los cuales se evaluó un tamaño de la muestra experimental de 167 unidades bovinas criollas y 167 de las razas europeas (Brown Swis, Holsteing,) de la cuales; del cual se obtuvieron 148 unidades bovinas criollas negativas a brucelosis y 19 unidades bovinas proporcionaron positivo a brucelosis lo que produjo un total de 11.37 % de prevalencia, en cambio en la razas europea presentaron los siguientes resultados de las 167 muestras alcanzaron 137 unidades bovinas negativas a brucelosis y 30 unidades bovinas proporcionaron positivo a brucelosis lo que produjo un total de 17,96 % de prevalencia ver cuadro 3 y figura 3

Cuadro 3.- Resultados y porcentajes de bovinos a la prueba de Rosa de Bengala, en Manabí. 2013.

Razas de Bovino	# de Casos Positivos	# de Casos Negativos	% de Prevalencia
------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-------------------------

Criollo (167)	19	148	11.37
Europeo (167)	30	137	17.96
Total	49	285	29.33

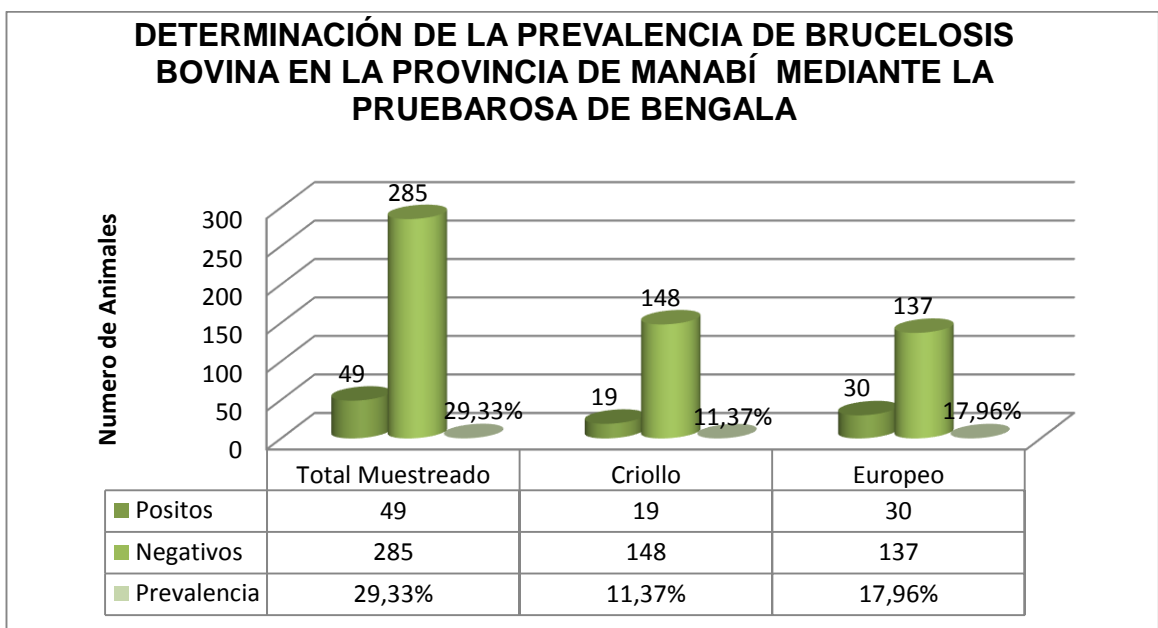


Figura 2.- Numero de bovinos analizado con la prueba Rosa de Bengala, en la Provincia de Manabí. 2013.

Con el fin de determinar el mayor número de reactores positivos a Brucelosis bovina y tomando en consideración el diagnostico existentes en el medio, se llegó a determinar que el total de la dos población tiene un (29.33%) de brucelosis, de los cuales 11.37% pertenece a la raza criolla y 17.96% a las razas europea, esto nos da una idea de que la raza criolla además de tener ese gen de rusticidad al medio ambiente en la época critica presenta también en la parte de sanidad. (Figura No 2).

4.2. Prevalencia de brucelosis bovina de la raza criollo y europea

Del total de 334 unidades bovinas muestreados; 167 fueron hembras de la raza criolla y 167 fueron de la razas europeas (Un mestizaje entre Brahmán, Brom Swis, Jersey y Holsteing. Para el caso de las hembras criolla 148 fueron negativas y 19 resultaron positivas a brucelosis bovina lo que equivale al 11.37%. Mientras que para la raza europea 167 resultaron negativos y 30 mostraron positivos a brucelosis bovina lo que equivale al 17.96%, este análisis determina que son más sensibles las razas europea en relación a la raza criolla de acuerdo al cuadro. La prueba de Chi Cuadrado determinó no significancia estadística de acuerdo a la raza. ($P \leq 0.05$). Ver figura 2 y anexo I.

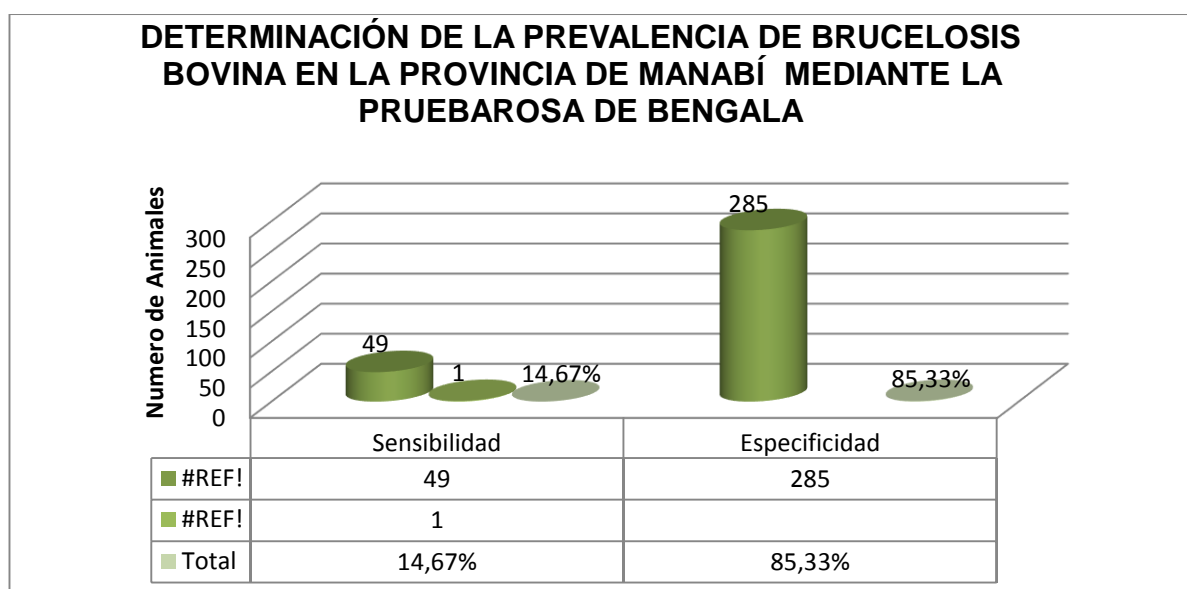


Figura 3.- Numero de bovinos analizado con la prueba Rosa de Bengala, en la Provincia de Manabí. 2013.

Las consecuencias de la (Figura No 3) indican que del total de muestras de plasma analizado, un promedio del 11.37% dio positivo a la raza criolla con el análisis de Rosa de Bengala, mientras que las razas europea fue del 17. %.

4.3. Determinación de las pérdidas económicas

En el cuadro 4, podemos demostrar la perdida que económicas que causa esta bacteria a las personas que están inmerso a este negocio y que afecta a la economía del ganadero cuando una vaca aborta. Se estima que en las ganaderías de la Provincia de Manabí el productor deja de percibir \$ 520,00 por

cada aborto, por concepto de venta de leche deja de percibir (\$ 400,00) y por el precio del ternero (\$ 120,00); lo cual da un total de (\$ 520. 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 o portador sano, lo que conlleva a que tome medidas drásticas como es la venta para camal del animal infectado y la reposición de la misma.

Cuadro 4.- Estimación de la pérdida económica causada por el aborto producido en la Provincia de Manabí. 2013

Parámetros	Provincia de Manabí
Duración de la lactancia (días)	200
Promedio de producción de leche (L) vaca día	5
Precio del litro de leche a nivel de finca	\$ 0,40
Sub total pérdida en leche (\$)	400
Valor del ternero	120
Total de pérdida (\$)	520

4.4. Medir la sensibilidad y especificidad de la pruebas de Rosa de Bengala.

Para medir la sensibilidad y la especificidad de la pruebas de Rosa de Bengala, se aplicaron la siguiente formula.

Formulas.

Sensibilidad

$$= \frac{49}{334} \times 100$$

La sensibilidad de la prueba Rosa de Bengala fue de 14.67 %

Especificidad

$$= \frac{285}{334} \times 100$$

La especificidad de la prueba Rosa de Bengala fue de 85.33 %

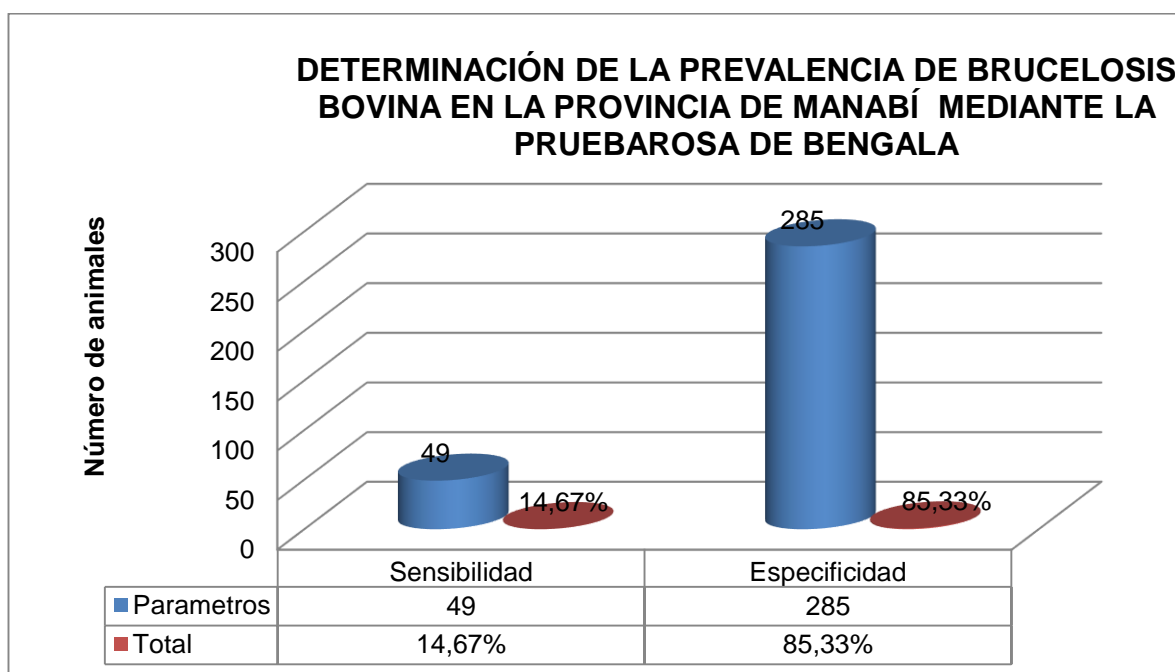


Figura 4.- Sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala, en la Provincia de Manabí. 2013.

Considerando la alta Sensibilidad y Especificidad para el diagnóstico de Brucelosis bovina, las 49 serologías positivas a Rosa de Bengala fueron sometidas a diagnóstico utilizando la prueba determinándose una sensibilidad de 14.67 % y una especificidad de 85.33% ver siguiente figura 4.

Costos por diagnóstico

Dentro de los costos por análisis de muestras durante la investigación en la Provincia de Manabí dados a conocer en el Cuadro, 5 para la prueba Rosa de Bengala es 1.26 dólares.

CUADRO 5. Costo de las pruebas para el diagnóstico de brucelosis en bovino. Laboratorio de biotecnología. UTEQ. Quevedo, 2013.

PRUEBAS	COSTOS		TOTAL COSTO	NUMERO MUESTRA	COSTO POR MUESTRA
	FIJOS	VARIABLES			
Rosa de Bengala					
Equipos	300,00	0,073	21,90	400	0,05
Materiales	550,00	0,790	434,50	400	1,09
Reactivos	520,00	0,089	46,28	400	0,12
Total de la Prueba					1,26

4.2. Discusión.

En los resultados obtenidos en el diagnóstico de *Brucella abortus* en bovinos en la provincia de Manabí se determinó la prevalencia de brucelosis por raza se encontraron secuelas de esta enfermedad ya que hay varios estudios en diferentes cantones de esta provincia, la reacción serológica positiva en la brucelosis es tardía, puede aparecer hasta algunas semanas después de la infección, por lo que es probable que animales recientemente infectados puedan estar en períodos de incubación de la enfermedad en el momento de la compra, sin dar reacción en ese momento. La raza criolla alcanzó un 11.37% y la raza europea 17.96% de porcentaje de incidencia de esta enfermedad, lo que esto resultados concuerda con Plaza, 1970 quien obtuvo lo mismo resultado no así, con Casanova quien obtuvo una respuesta inferior es decir un 3% lo que también coincide con Cotrina y Fernández 1991; una forma de prevenir la presencia de *B. abortus* en el rebaño es llevando a cabo un manejo seleccionado como: diagnóstico, vacunación, sistema de vigilancia, saneamiento ambiental, técnicas de manejo, Desecho de los productos provenientes de hatos o animales infectados. También esto resultado concuerda en un estudio realizado en Colombia con ganado criollo donde Martínez, 2005 el carácter resistencia – susceptibilidad presenta un control genético altamente heredable en la población evaluada, y parece existir mayor capacidad de control de la replicación bacteriana intrafagosomal en la raza BON, lo que puede utilizarse en programas de mejora para obtener animales resistentes a brucelosis.

Los valores reportado en este trabajo indica que la provincia de Manabí en otros años no están en cecistan de esta enfermedad y que su presencia puede estar asociada al desconocimiento por parte de los ganaderos al riesgo de esta enfermedad que produce al productor, la vigilancia epidemiología es la base para los programa de erradicación de la *Brucella*, sin embargo no se discute frecuentemente la investigaciones serias que tratan de definir dónde, cuándo y por qué un programa no logra operar eficientemente, la prueba rosa de Bengala puede ser una herramienta específica y posible para el diagnóstico de *Brucella abortus*. Adicionalmente, los ganaderos de la provincia de Manabí aplican el

sistema de crianza extensivo, que permite que los animales no tengan un lugar fijo, tanto de residencia como de alimentación, con lo cual hay mayor contacto con ganaderías de otros hatos. Además en esta provincia hay diferentes criadores que se juntan durante la comercialización de animales y subproductos lácteos, lo que incrementa el factor de riesgo, y esto podría traducirse en el hallazgo de un mayor número de animales cero reactores. Diferentes investigaciones donde se ha utilizado la rosa de Bengala para la detección de anticuerpo contra *Brucella abortus* de bovinos han demostrado que la misma es más sensible que otras convencionales para la identificación, además sino se toma las medidas necesarias se tiene reactividad cruzada con otras bacterias gram negativas tales como la *Yersenia enterocolitica* es sugerida por investigadores, quienes han tenido este tipo de reacción (Romero, 1995). Finalmente para comprobar la ausencia de reacciones cruzadas con algún microorganismo relacionados con *Brucella* es importante realizar las detecciones y el estudio de los síntomas clínicos de los hatos con prevalencia. La prueba convencional de rosa de bengala aplicada a este tipo de muestra han demostrado a través de los años unas series de ventajas sobre la prueba serológica han sido de gran utilidad en países que han controlado y que han controlado niveles muy bajos de infección.

La consecuencia de la brucelosis se lo mide a través de la producción de leche y carne que la vaca deja de producir cuando esta aborta, debido a que se producen cambios hormonales en el animal por la ausencia de la oxitocina, induciendo a la producción de progesterona que inhibe la producción de leche, por otro lado, debido al aborto, no hay presencia del ternero, lo que aumenta aún más la pérdida económica. En el presente estudio se llegó a determinar el valor de \$ 520, 00 de pérdidas por vacas en la provincia de Manabí, esto resultados concuerda con Casanova, además se debe considerar lo indicado por Díaz 2001, quien manifiestan que son muy pocas las vacas 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

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Del presente trabajo de investigación se determinan las siguientes conclusiones y recomendaciones

- La prevalencia de *Brucella abortus* en bovinos en la provincia de Manabí en raza criolla y europea fue de 11.37 y 17.96% respectivamente de casos positivos.
- El 75 % de los ganaderos indicaron no conocer a la brucelosis como una enfermedad reproductiva infecto contagiosa y que causa pérdida económica.
- Las pérdidas económicas provocada por la brucelosis es de \$ 520, 00
- La presencia de *Brucella abortus*, en los hatos ganaderos es mayor en las hembras de la raza europea, con promedios de 17.96%. El análisis mediante la Prueba No Paramétrica de χ^2 determinó que no hay significancia estadística ($P \leq 0.05$).
- El 90 % de los ganaderos no realizan vacunación contra esta enfermedad.
- La sensibilidad y especificidad de esta prueba (Rosa de Bengala) fue de 14.63 y 85,37 % respectivamente.

5.2 RECOMENDACIONES

Por lo expuesto se recomienda:

- Sacrificar a los animales con reacción positiva de *Brucelosis*, para evitar de esta manera la propagación y contagio de la enfermedad.
- Aplicar obligatoriamente la vacunación a animales destinados a la reproducción con el fin de llevar un control epidemiológico de esta enfermedad.
- Determinar medidas preventivas adecuadas para mantener la zona con niveles bajos de infección y aprovechar la rusticidad de la raza criolla
- Debe implementarse la necesidad de realizar exámenes de sangre a los bovinos que van ingresar a los predios ganaderos por primera vez.
- Establecer un plan emergente masivo para el control y erradicación de la *Brucelosis* en las ganaderías de la provincia de Manabí con la finalidad de mejorar la producción de los hatos bovinos.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

1. **Abarca, M.; Martin, J. A.** 1995. "Diagnóstico y tratamiento de la Brucelosis y Salmonelosis". Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. Departamento de Medicina Interna. Hospital 12 de Octubre. Universidad Complutense de Madrid. pp. 632-635.
2. **Abeledo, María A.** 1981. "Prueba de Rosa de Bengala en el Diagnóstico de la Brucelosis bovina en Cuba". Tesis de Candidatura. CENSA.
3. **Alton, G.; Jones, M. L. y Pietz, D. E.** 1976. "Las técnicas de laboratorio en Brucelosis". 2a. Ed. Ginebra, Suiza.
4. **Arestegui .M.B. y Gualtieri. C.** 2005. Brucelosis bovina. Cátedra de Sueros y Vacunas. Facultad de Cs. Veterinarias UNR. México.
5. **Bathke, W.** 1981: Brucelosis. En " Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos" JoachimBeer. Ed. Acribia. Tomo II. Zaragoza España. Págs. 142-156.
6. **Bercovich, Z.** 1998: Maintenance of Brucella abortus-free herds: a review with emphasis on the epidemiology and the problems in diagnosing brucellosis in areas of low prevalence. : Vet Q. Jul; 20(3): 81-8.
7. **Boffil, P.; Rivas, A.; Ramírez, W.; Montañez, J.; Martínez, A.; Quincoses, T.; González, L. R. y Fustes, E.** 1989. "Manual de Enfermedades Infecciosas". Tomo I. Ed.S.A.C.H., M.E.S.
8. **Brito y Gonzales.** 2001. Presencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Bolívar, Provincia de Manabí. Tesis licenciatura en enfermería. Escuela de Bioanálisis. PUCE.

9. **Casanova. A.** 2003. Presencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Jama, Provincia de Manabí. Tesis Doctoral. Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, EC.
10. **Corbel, M. J.** 1997: Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis* . Apr-Jun;3(2): 213- 219.
11. **Cotrina, N. y Fernández, A.** 1991: Brucelosis, problema sanitario y económico. Ed. Científico-técnico, La Habana.
12. **Dajer Abimerhi A. F; Gutiérrez E.J; Zapatas D.** 1998. Uso de las pruebas de ensayo inmune absorbentes ligados a enzimas y aglutinación con rivanol para el diagnóstico de brucelosis bovina en Yucatán Mérida México, D.F. *Vet. Méx.* p.167 – 171
13. **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.
14. **Homedes. J.,** 1963. *Veterinaria Práctica.* Colección Agrícola Salvat. Segunda Edición. Pp. 670 – 675
15. **Jacobo, R. H.** 1985 .Rosa de Bengala, Técnica de elección para un primer muestreo serológico". *Vet. Argentina.*
16. **Plaza. D. O.** 1.970 Diagnóstico de Abortos Bang en el ganado vacuno de los cantones de Clione, Rocafuerte y Bolívar. Tesis Doctoral. Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, EC.
17. **Sandoval. V. P.** 2007. Manual de normas y procedimientos para la toma y envío de muestras para el laboratorio veterinario, estandarización y

validación de pruebas para el diagnóstico y plan de contingencia de brucelosis. SESA. Servicio ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.

18. SESA. (2002). Servicio ecuatoriano de Sanidad Animal. Control de Brucelosis Bovina. Manual Técnico, Quito, Ec.

VII. ANEXOS

ANEXO I.- Evaluación de casos positivos mediante la Prueba No Paramétrica para una sola muestra, Prueba de Chi Cuadrado para las razas en la provincia de Manabí.

Casos Positivos	Fo	Fe	(Fo – Fe)	(Fo – Fe)²	(Fo – Fe)²/Fe
Criollos	19	24.5	- 5.5	30.25	1.23
Europeo	30	24.5	5.5	30.25	1.23
Total	49	49	0	NS	2.46

$$49/2=25.5$$

El resultado obtenido es 2.46

Los g.l. = (r – 1)

$$\text{g.l.} = 2 - 1 = 1$$

$$\text{g.l.} = 1$$

Buscamos en la tabla χ^2 con un α 0,05 y 1 g.l. = **3,841**; Por tanto no se acepta la hipótesis de investigación porque el χ^2 calculado es inferior al χ^2 de la tabla.

No hay significancia estadística ($P \leq 0.05$).