



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA

MODALIDAD SEMIPRESENCIAL

CARRERA: INGENIERÍA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

**“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (*Brucella abortus*)
MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN LOS
CANTONES (ELOY ALFARO, MUISNE Y ESMERALDAS) DE LA
PROVINCIA DE ESMERALDAS.”**

Previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

AUTOR:

JOSÉ MANUEL MONCAYO CASTRO

DIRECTOR

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ. MSc

QUEVEDO – LOS RIOS - ECUADOR

2015

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, José Manuel Moncayo Castro 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.

JOSÉ MANUEL MONCAYO CASTRO

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

El suscrito, Ing. Orly Fernando Cevallos Falquez, MSc. Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Egresado José Manuel Moncayo Castro, realizó la tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, tesis titulada **“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (*Brucella abortus*) MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN LOS CANTONES (ELOY ALFARO, MUISNE Y ESMERALDAS) DE LA PROVINCIA DE ESMERALDAS”**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

ING. ORLY CEVALLOS FALQUEZ, MSc.
DIRECTOR DE TESIS



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

TESIS DE GRADO

“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (*Brucella abortus*) MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN LOS CANTONES (ELOY ALFARO, MUISNE Y ESMERALDAS) DE LA PROVINCIA DE ESMERALDAS.”

Autor: JOSÉ MANUEL MONCAYO CASTRO

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

Aprobado:

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

Ing. Guido Alvarez Perdomo, MSc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Ronald Cabeza Congo, MSc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

El autor deja constancia de su agradecimiento a:

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Institución digna y grande que me acogió como estudiante.

Las Autoridades de la Universidad.

Ing. Roque Vivas Moreira. MSc. Rector de la UTEQ, por su gestión en beneficio de la Comunidad Universitaria.

Ing. Guadalupe Murillo Campuzano MSc. Vicerrectora Administrativa de la UTEQ, por su gestión en la UED y apoyo a los estudiantes.

Ing. Carlos Martínez MSc., Vicerrector Académico de la UTEQ, por su gestión académica.

Ing. Dominga Rodríguez MSc. Director de la Unidad de Estudios a Distancia, por su trabajo arduo y tesonero a favor de los estudiantes.

Ing. Lauden Geobakg Rizzo Zamora MSc. Coordinador de la Carrera Agropecuaria.

Ing. Orly Cevallos Falquez. Director de tesis, por su apoyo y motivación para la exitosa culminación de esta investigación.

A familiares que de una u otra forma me ayudaron para la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

Le dedico primeramente mi trabajo a Dios fué el creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando estado a punto de caer. De igual forma, a mis Padres, a quien le debo toda mi vida, les agradezco el cariño y su comprensión, a ustedes quienes han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante buscando siempre el mejor camino, y demás familiares ya que me brindan el apoyo, la alegría y me dan la fortaleza necesaria para seguir perfeccionando.

A mis maestros, gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

A los amigos que siempre estuvieron en las buenas y en las malas con sus consejos y ese apoyo moral, que hicieron que no me dé por vencido y pueda culminar mi carrera.

Manuel

ÍNDICE

Capítulo	Página
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
Abstracto.....	xiv

CAPÍTULO I.

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1 Introducción.....	2
1.2. Objetivos	4
1.2.1. General	4
1.2.2. Específicos.....	4
1.3. Hipótesis	4

CAPÍTULO II.

REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Generalidades	6
2.1.1. Historia de la enfermedad	6
2.1.2. Brucelosis bovina	7
2.1.3. Etiología	8
2.1.4. Transmisión.....	8
2.1.5. Forma de contagio	10
2.1.6. Patogenia	11
2.1.7. Prueba rosa de bengala	12
2.1.8. Obtención de muestra para serología	14

2.1.9.	Investigaciones realizadas en Ecuador.....	15
--------	--	----

CAPÍTULO III.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	18	
3.1.	Localización y duración del experimento	18
3.1.1.	Condiciones agroclimáticas	18
3.1.2.	Materiales y equipos	19
3.2.1.	Material	19
3.1.3.	Etapas de laboratorio.....	19
3.1.3.1.	Pruebas serológicas utilizadas en la investigación	20
3.1.3.2.	Prueba rosa de bengala.....	20
3.1.4.	Metodología.....	20
3.1.4.1.	Campo.....	20
3.1.4.2.	De laboratorio.....	21
3.1.4.3.	Diseño experimental.....	22
3.1.4.4.	Método porcentual	22
3.1.4.5.	Análisis porcentual	22
3.1.4.6.	Concepto estadístico para el estudio epidemiológico de la enfermedad	23

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25	
4.1.	Prevalencia de brucelosis bovina en tres cantones de provincia de Esmeraldas en tres cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas).....	26
4.2.	Prevalencia aparente prueba Rosa de Bengala.....	27
4.3.	Característica de las pruebas de diagnósticas para el análisis de sensibilidad y especificidad	27
4.4.	Determinación de las pérdidas económicas.....	28

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30	
5.1.	Conclusiones.....	31
5.2.	Recomendaciones	32

CAPÍTULO VI.	
BIBLIOGRAFÍA.....	33
CAPÍTULO VII.	
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Condiciones agroclimáticas de la zona de investigación para la prevalencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.....	18
2. Materiales y equipos en la prevalencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.2014.	19
3. Prevalencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas. 2014.....	26
4. Número de animales muestreados y resultados serológicos positivos en la prevalencia de brucelosis bovina Esmeraldas. 2014	27
5. Estimación de la pérdida económica en la prevalencia de brucelosis bovina Esmeraldas. 2014.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Figura	Página
1. Ganadería en el cantón Eloy Alfaro.....	41
2. Ganadería en el cantón Esmeraldas	41
3. Toma de las muestras en Cantón Muisne	42
4. Toma de las muestras en la vena coccígea	42
5. Recuperación del suero para el traslado al laboratorio	43
6. Conjugación de la muestra y antígeno (RB	43
7. Mescla de antígeno con el suero.....	44
8. Verificación de los resultados en el aglutinoscopio	44

RESUMEN

Para determinar la incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en tres cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas, ubicada geográficamente es: 01° 06' de latitud Sur y 79° 27' de longitud Oeste, a una altura de 100 m.s.n.m. El objetivo fue determinar la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas. Se trabajó con 300 unidades bovinas mayores de 36 meses a cada unidad bovina se le extrajo 3cc de sangre de la vena coccígea, las mismas que fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología de la UTEQ, en termos de refrigeración; los sueros fueron analizados los resultados revelan la prevalencia de brucelosis de un 18.33% (55 casos positivos); distribuido en Eloy Alfaro 18%; Muisne 21% y Esmeraldas 16%. La sensibilidad y especificidad de la prueba rosa de bengala en la determinación de la prevalencia se determinó en un 18.33% y 81.67% respectivamente, confirmando que esta prueba tiene una baja sensibilidad y solo se la puede utilizar como prueba de screening. Las pérdidas económicas por UBA la cual fue de \$ 625.

Palabra clave: brucelosis bovina, especificidad, sensibilidad, rosa de bengala, prevalencia

CAPÍTULO I
MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Introducción

La brucelosis es una enfermedad infecciosa aguda de etiología bacteriana producida por microorganismos del género *Brucella*. Existen seis especies de *Brucella* que están asociadas a varios huéspedes principales, *B. abortus* al ganado bovino, *B. melitensis* al caprino, *B. suis* a los porcinos, *B. canis* a los caninos y *B. neotomae* a roedores salvajes, recientemente *Brucella maris* asociada a mamíferos marinos además se encuentra ubicada 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 y cuyas repercusiones en el comercio internacional de animales y productos de origen animal son considerables.

La incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) viene a constituirse no solo en un problema de sanidad animal sino también en un grave riesgo a la salud humana, al ser una enfermedad zoonótica que repercute negativamente en las condiciones de salud de los trabajadores vinculados con el manejo de hatos ganaderos, al entrar en contacto con animales infectados y también para la población que consume productos contaminados como leche y sus derivados, producidos en forma artesanal.

La incidencia de esta enfermedad ataca a bovinos de todas las edades, pero persiste con mayor frecuencia en animales sexualmente adultos. Está directamente relacionada con la densidad de la población de ganado, los signos clínicos y epidemiológicos de esta patología, se identifican por la producción de abortos en el último trimestre de la gestación, aumento de mortalidad de terneros nacidos débiles, pérdida de reproductores de alto valor genético (Calle, 2009).

En los bovinos el diagnóstico se basa sobre todo en la serología. Tanto la reacción de una prueba serológica como su utilidad en cada circunstancia se basan en la sensibilidad que tiene para los anticuerpos de las diferentes clases

de inmunoglobulinas y por la concentración sérica del anticuerpo de cada clase. Es difícil el diagnóstico de la causa del aborto y la orquitis en un animal aislado debido a la multiplicidad de las causas que pueden intervenir.

Dada la importancia económica que tiene la producción lechera en nuestra provincia, la brucelosis bovina viene a constituirse en una de las enfermedades más importantes, provocando la disminución de la eficiencia reproductiva y la baja producción lechera, debido a los abortos, este grave problema deriva de la falta de conocimiento, de los alcances de la enfermedad por parte de los ganaderos y la poca eficiencia de programas de prevención y vacunación existente en nuestro país. El presente trabajo busca conocer la prevalencia de brucelosis bovina mediante análisis de laboratorios y cuantificar animales positivo existente y que tiene como objeto determinar el porcentaje de brucelosis bovina en los tres cantones (Muisne, Eloy Alfaro y Esmeraldas) y de capacitar a los ganaderos, técnicos, médicos veterinarios y microbiólogos para reducir progresivamente la existencia de fuentes de infección, para elaborar un programa sanitario que garantice la producción inocua de leche y sus derivados contribuyendo con la soberanía alimentaria y el buen vivir.

1.2. Objetivos

1.2.1 General

- ❖ Evaluar la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.

1.2.2 Específicos

- ❖ Establecer la prevalencia de brucelosis en bovinos machos y hembras en edad reproductiva mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas

- ❖ Determinar las zonas de mayor prevalencia de brucelosis bovina en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.
- ❖ Estimar el costo por muestra en la determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas).

1.3 Hipótesis

- ❖ La prueba serológica Rosa de Bengala revela que en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) existen un alto porcentaje de brucelosis en bovinos.
- ❖ La prueba rosa de bengala en el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina representa una herramienta certera en la determinación de esta enfermedad.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2.1. Fundamentos teóricos

2.1.1. Historia de la Enfermedad

El agente etiológico fue descubierto a finales del siglo XIX por Sir David Bruce, quien fue enviado a investigar a la Isla de Malta (Mediterranean Fever Commission) la causa de un padecimiento febril que había producido la muerte de un número considerable de soldados. El germen se identificó en 1887 en el bazo de cuatros soldados fallecidos y fue denominado *Micrococcus melite*. En 1896 Bang, un veterinario danés descubrió el agente causal del aborto bovino, que en un futuro se denominó *B. abortus* y en 1905 Themistokles Zammit documentó el papel que tenían las cabras y el consumo de sus productos, como fuente de contagio para adquirir la enfermedad. (Laval, 2006).

En 1930, el nombre de la enfermedad fue cambiado de aborto infeccioso de los bóvidos a la enfermedad de Bang. Las preocupaciones crecían sobre la relación entre la enfermedad en animales y los seres humanos. Un comité de la Asociación Médica Veterinaria de América recomendó una vacuna que fue desarrollada a partir de una cepa de baja virulencia llamada *B. abortus* cepa 19. Esta vacuna se ha utilizado por décadas como el principal agente inmunizante para el control de la brucelosis bovina (Nicoletti, 2002).

Se ha estudiado en una variedad de dosis y de métodos de administración. En 1934, un programa cooperativo de Erradicación de Brucelosis en Estados Unidos fue lanzado a nivel nacional como parte de un programa de emergencia para la reducción de la enfermedad en bovinos con previo análisis de sangre, el sacrificio de ganados seropositivos, e indemnizaciones federales. Sin embargo se presentaron muchos problemas incluyendo la estandarización de procedimientos para las pruebas (Nicoletti, 2002).

En 1941, la cepa 19 fue introducida y utilizada en más estados y todo el ganado vacunado era correctamente identificado. En 1952, la prueba de anillo en leche fue introducida en el programa, siendo el principal método de

vigilancia en ganados lecheros con posible brucelosis. Sin embargo surgieron muchas dudas acerca del programa, dando como resultado una comisión especial, la cual recomendó muchos cambios en el programa (Nicoletti, 2002).

En 1953, Buddle y Boyes en Australia y Nueva Zelanda identificaron a *B. ovis* como causa de epididimitis en ovejas. Más adelante, Car Michael aisló *B. canis* de fetos caninos abortados (Nicoletti, 2002).

En años recientes, el espectro de huéspedes de *Brucella* se ha ampliado al incluir los mamíferos marinos. Se han realizado aislamientos de *Brucella* a partir de una gran variedad de focas, leones marinos, delfines y ballenas, en las costas de diferentes continentes. Estas cepas, claramente forman un grupo separado al que, de modo no oficial, han denominado *B. maris*. Dentro del grupo se distinguen dos tipos: el formado por cepas provenientes de cetáceos y el de las cepas aisladas provenientes de pinnípedos. Por lo que actualmente se conocen como *B. cetaceae* y *B. pinnipediae* (López y Contreras, 2004).

2.1.2. Brucelosis bovina

En el ganado vacuno la brucelosis suele estar causada por biovariedades de *Brucella abortus*. En algunos países, particularmente en el sur de Europa y en el oeste de Asia, donde el ganado se cría junto a ovejas o cabras, la infección también puede ser debida a *B. melitensis*. En ocasiones, *B. suis* puede causar una infección crónica de las mamas en el ganado vacuno, pero no se ha descrito que origine abortos o se extienda a otros animales (SENASA, 2009).

Normalmente la enfermedad es asintomática en las hembras no gestantes. Después de la infección por *B. abortus* o por *B. melitensis*, las hembras adultas en gestación desarrollan una placentitis que, por lo general, provoca el aborto entre el quinto y el noveno mes de gestación. Incluso en ausencia de aborto se produce una gran excreción de microorganismos a través de la placenta, los líquidos fetales y los exudados vaginales. Las mamas y los ganglios linfáticos regionales también pueden infectarse y los microorganismos pueden aparecer en la leche. Las gestaciones posteriores llegan, por lo general, a término, pero

la infección uterina y la mamaria se repiten, con un número reducido de microorganismos en los productos del parto y en la leche. En las infecciones agudas, el microorganismo está presente en la mayoría de los ganglios linfáticos. Los machos adultos pueden desarrollar orquitis, y la brucelosis puede causar la esterilidad en ambos sexos. Una manifestación corriente de la brucelosis en algunos países tropicales son los higromas, por lo general en las articulaciones de las patas, que pueden representar el único indicador de la infección; con frecuencia, el líquido de los higromas está infectado por *Brucella* (Bustamante y Cedeño, 2009).

2.1.3. Etiología

La Brucelosis es ocasionada por bacterias gran negativas, que al observar al microscopio en forma de cocobacilos de 0,5 a 0,7 μm de diámetro y de 0,5 a 1,5 μm de largo, intracelulares facultativos, inmóviles y aerobios, no forman esporas, bastantes resistentes a la desecación lo que ayuda a que puedan permanecer con vida durante mucho tiempo al ambiente o los alimentos, como leche, mantequilla y queso. La pasteurización destruye estas bacterias (Paredes, 2012).

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).

2.1.4. Transmisión

La forma principal de contagio es la vía digestiva, esta se produce cuando los animales lamen fetos abortados, terneros recién nacidos y/o los genitales de otros animales, y si estos están bruceloso se produce una ingestión masiva de bacterias.

También es importante la ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminados con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. Algunos autores consideran que el contagio por vía cutánea tiene por lo menos, la misma importancia, por ejemplo: se pueden producir infecciones mediante las camas infectadas, cuando haya lesiones en las tetillas o en los extremos de los miembros o en el espacio interdigital que faciliten la penetración del agente patógeno en capas profundas de la piel, al ordeñar, quizás puedan introducir *Brucella* en la piel de los pezones las manos humedecidas con leche infectada (Rodríguez *et al.*, 2005).

La vía genital puede ser importante solo si se realiza inseminación artificial con semen infectado, de lo contrario, la brucelosis bovina no es una enfermedad venérea. El semen de un toro infectado puede contener grandes cantidades pero sin embargo no contagia a la vaca. La razón es que la acidez de la vagina contribuye a destruir a las brucelas (Rodríguez *et al.*, 2005).

La transmisión es menos frecuente por vía respiratoria, mediante la inhalación de polvo y partículas que transportan brucelas, puede tener importancia durante el verano cuando se reúnen los animales en corrales y mangas para realizar vacunaciones, desparasitaciones, etc. Esta enfermedad tiene un periodo de incubación variable pues la bacteria luego de ingresar al organismo se multiplica en ganglios y órganos del sistema retículo-endotelial y el tiempo del mismo varía de acuerdo al estado fisiológico del animal. El período de incubación siempre es más corto en el animal preñado. Las vacas inmaduras sexualmente son altamente resistentes a *B. abortus* y la susceptibilidad aumenta con el desarrollo sexual y con la gestación (Rodríguez, *et al.*, 2005).

El signo principal de la enfermedad es el aborto al final del tercio mes de la preñez. (5-7 meses). No es frecuente la presencia de mortinatos debido a esta enfermedad. La principal fuente de contagio son las secreciones vaginales que se producen desde aproximadamente 15 días antes del aborto o parto hasta 4 semanas siguientes al mismo. Algunos experimentos demostraron que se

pueden eliminar hasta 1×10^{14} brucelas por gramo de placenta (Rodríguez *et al.*, 2005).

Lo que nos está indicando la gravedad del fenómeno que representa el aborto y más aún el parto de un animal bruceloso que confunde porque se puede pensar que está sano, sin embargo elimina tantas brucelas como aquel que pare. Pueden infectarse en útero o cuando los terneros nacidos de madres sanas son alimentados con leche o calostro de hembras enfermas (Rodríguez, *et al.*, 2005).

2.1.5. Formas de Contagio

La primera causa de infección de un establecimiento ocurre fundamentalmente por introducir animales infectados procedentes de compras de ferias u otros establecimientos. Puede ocurrir también que animales de un establecimiento concurren a alguna exposición o se trasladen a otros campos para engorde y vuelvan infectados. De este modo es altamente recomendable conocer el procedimiento de los animales y el estado sanitario del ruedo del que provienen. Por supuesto se debe hacer una sangría en el lugar de compra y descartar los animales en caso de encontrarse positivo. Es muy importante al detectar animales positivos en los animales de compra NO adquirir ningún integrante del lote, pues es frecuente el rechazo de los positivos y la compra de los restantes. Esto es debido a que, existe la alta probabilidad de que haya animales en fase de incubación que no fueron detectados todavía (Samartino, 2003; Rodríguez, 2005; Rodríguez, 2002).

Además, se debe realizar una cuarentena en el establecimiento comprador antes de juntar los animales. De manera alternativa también contribuyen los perros, zorros u otros animales carnívoros que llevan los restos de fetos, placentas u otros materiales infectados (Samartino, 2003; Rodríguez, 2005; Rodríguez, 2002).

A la infección de los establos puede contribuir también la leche, pues, aproximadamente la mitad de las vacas infectadas, después de abortar o parir, eliminan Brucella con la leche durante semanas, meses y años; sobre todo en aquellas salas de ordeño donde la higiene es muy deficiente y que al ordeñar, se dejen caer al piso los primeros chorros de leche (Rodríguez, A., Orduña, A., Ariza, 2005).

2.1.6. Patogenia

Las especies de Brucella carecen de los factores de virulencia clásicos como exotoxinas y endotoxinas, el lipopolisacárido S (LPS-S) es el mayor determinante de la virulencia de esta bacteria y la respuesta es predominantemente humoral, la cual es la responsable de conferir protección en contra de la infección por esta bacteria (Mantur, Amarnath y Shinde, 2007).

Al momento de entrar al organismo las brucellas van a invadir las células del sistema fagocítico mononuclear y se van a desarrollar dentro de estas células, de manera inicial la respuesta es mediada por linfocitos T ayudadores tipo uno, los cuales en conjunto con la activación de macrófagos se encargan de eliminar a las células infectadas. En caso de no ser eliminadas, éstas llegarán por vía linfática a los ganglios regionales y de ahí penetran al sistema circulatorio, en donde son fagocitadas por los macrófagos y polimorfonucleares y son transportadas a los órganos del cuerpo humano, en los cuales pueden continuar multiplicándose a través de los fagocitos tisulares.(Castro, González y Prat, 2005).

Se cree que la supervivencia de la Brucella dentro de este tipo de células va a ser mediada por sustancias antioxidantes y por la producción de AMP y GMP cíclicos, los cuales van a inhibir la fusión de los fagosomas con los lisosomas, la activación del factor de necrosis tumoral alfa, la degranulación y la activación del sistema mieloperoxidasa.¹² Así mismo recientemente se han hecho investigaciones en relación a la producción de ureasa por parte de la bacteria, la cual aparentemente protege a la brucella durante su paso por la vía digestiva. Todos estos factores de virulencia producidos por el microorganismo

van a permitir la supervivencia a nivel intracelular de al menos 15 a 30% de las brucellas ingeridas y la posterior replicación de las mismas (Mantur, Amarnath y Shinde, 2007).

Los signos clínicos clásicos son: aborto después del quinto mes de gestación, retención de placenta, metritis, infertilidad, orquitis y epididimitis. Se sabe que un porcentaje de las vacas y vaquillonas que se infectan durante la primera gestación abortan; si la infección es reciente pueden abortar hasta el 40%, mientras que si los animales conviven con la infección durante 2 años este síntoma es menos evidente. Las bacterias se localizan también en otros órganos como mama, linfonódulos supramamarios siendo excretadas con la leche. Según experiencias realizadas por distintos autores una vaca infectada produce un 20% menos de leche en relación con su potencial de producción (Gorvel y Moreno, 2002).

2.6.7. Prueba de Rosa De Bengala. (R.B.).

El diagnóstico de brucelosis se sospecha en animales con abortos y nacimiento de ternero débiles de origen desconocido y que cuenten con factores de riesgo para adquirir la infección. Los estudios de laboratorio y gabinete de rutina no muestran datos específicos; habitualmente el conteo leucocitario es normal aunque puede estar disminuido y en ocasiones se encuentra ligera transaminasemia (Tawfiq, 2008).

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; 4,15 este método es uno de los más utilizados, aunque tiene la desventaja de que la bacteria crece lentamente. 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 (Tawfiq, 2008).

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. Otros métodos de diagnóstico serológico son: aglutinación con Rosa de Bengala, aglutinación en tubo (SAT), fijación del complemento, Coombs anti-brucella y ELISA.¹⁶ La aglutinación con Rosa de Bengala y la aglutinación en tubo son las pruebas serológicas más frecuentemente utilizadas por su rapidez y sencillez (Rodríguez *et al.*, 2005).

La aglutinación con Rosa de Bengala es una prueba muy económica y con una sensibilidad muy alta del 99%, pero tiene el inconveniente de una especificidad del 40%.¹⁵ Esta prueba es de utilidad en áreas rurales, en donde no es posible llevar a cabo la aglutinación en tubo y en casos en donde es muy importante un tratamiento temprano como en la neurobrucelosis, la artritis y la orquitis; pero habrá que tener en consideración que la enfermedad deberá ser corroborada por medio de una prueba confirmatoria (Tawfiq, 2008).

La prueba de aglutinación en tubo (SAT) detecta anticuerpos contra la bacteria tanto de tipo IgM como de IgG.¹⁵ Un título > 1:160 se considera positivo; sin embargo en áreas endémicas, se recomiendan títulos > 1:320 y la prueba puede permanecer positiva por tiempo prolongado.^{13,15} En infección aguda aparecen rápidamente anticuerpos IgM que son seguidos por anticuerpos IgG e IgA, estos anticuerpos se pueden detectar por aglutinación en tubo, en placa o por microaglutinación (Tawfiq, 2008; Rubio *et al.*, 2002).

Las inmunoglobulinas responsables de la reacción son las IgG1 como en el caso de la FC, e incluso las IgM, según la forma de preparación del antígeno

(D. Levieux, comunicación personal). Esta prueba detecta la enfermedad en estadios más precoces que la ALT e incluso que la FC o al mismo tiempo que la FC (Mariño, 2000).

Se aconseja tomar la sangre en tubos al vacío, bien sea de la yugular o arteria caudal. Este procedimiento es costoso, pero asegura la esterilidad de la muestra y con un poco de práctica es el método que menos molestias le produce al animal, además que la conservación de la muestra es menos crítica. Una vez tomada la muestra se deja a temperatura ambiente o se lleva por 30 minutos a la estufa a 37°C hasta que se forme el coágulo y posteriormente se mantiene por 1 o 2 horas a 4°C para lograr su retracción. El proceso de extracción del suero se realiza asépticamente luego de centrifugación a 1500r.p.m. los sueros una vez obtenidos deben conservarse congelados a -20°C hasta el momento de realizar las pruebas. Si es necesario transportar las muestras con coágulo, es indispensable tener en cuenta que la agitación de las mismas produce hemólisis. Otro factor de hemólisis es la exposición de la muestra al sol cuando se está tomando, o al envasarlas en recipientes húmedos o contaminados con detergentes u otras sustancias hemolíticas.

Igualmente, las muestras de leche deben tomarse de la forma más aséptica posible, los primeros chorros deben descartarse y esta debe recibirse en frascos o tubos estériles (Mariño, 2000).

Puede emplearse un recipiente para cada cuarto o hacer una mezcla de los cuartos. Las muestras de semen se toman mediante masaje, electroeyaculador o vagina artificial pudiendo emplearse un preservativo para evitar la contaminación. Todas estas muestras, al igual que el suero sanguíneo deben conservarse en refrigeración hasta su recibo en el laboratorio. El plasma seminal debe conservarse congelado (Mariño, 2000).

2.1.8. Obtención de la muestra para serología

- **Extracción de sangre:** en los grandes animales, la sangre se obtiene de la vena yugular o bien de la vena caudal; en los pequeños animales a partir de la vena cefálica antibraquial o de la safena. Si la extracción se hace con jeringa debe hacerse en forma lenta para no generar turbulencia y evitar la hemólisis. Los tubos para colectar la muestra deben estar secos, limpios y perfectamente rotulados.

- **Obtención del suero:** para su obtención, se deja coagular la sangre en el tubo a temperatura ambiente (20-22°C) durante 12-24 h o se coloca en estufa a 37°C durante 3-4 h. El suero obtenido a partir de la retracción del coágulo es separado con la ayuda de pipeta. Si hay glóbulos rojos en suspensión deberá centrifugarse a 1500-3000 rpm durante 5 minutos.

-**Conservación del suero:** si el suero va a ser utilizado en forma inmediata se refrigera, de lo contrario se congela a -20°C. No debe congelarse y descongelarse repetidas veces. La característica deseable es que sea translúcido e inodoro. No deben utilizarse en pruebas serológicas sueros hemolisados o contaminados. (Arestegui, Gualtieri y Domínguez, 2005).

2.1.9. Investigaciones realizadas en Ecuador.

En una investigación titulada "Incidencia – Prevalencia y Plan de control de Brucelosis bovina en Hatos Lecheros de la Sierra Norte Ecuatoriana" analizó la incidencia de brucelosis bovina en las provincias de la Sierra Norte , Carchi, Imbabura y Pichincha concluyendo que para el año 2009, se presentó diferentes porcentajes de infección por *Brucella abortus*, registrándose el mayor porcentaje en los bovinos pertenecientes a la provincia de Carchi con 8.52 % de incidencia, 0.75 % en los bovinos de la provincia de Imbabura y el 0.36 % en los bovinos pertenecientes a la provincia de Pichincha, mientras que de manera general en la región Sierra Norte esta enfermedad se halla diseminada en el 1.80 % de los bovinos existentes. (Escobar, 2011).

Para “Determinar la prevalencia de Brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquín, recinto Cristal de Lelia” en la cual se analizaron 19 UPAs correspondiendo al total de la población, a las cuales se realizó la prueba de anillo en leche (PAL) a cada una, dando como resultado una UPA positiva (5,26%). Para la confirmación de los resultados obtenidos en PAL, 534 sueros bovinos fueron analizados con las pruebas Rosa de Bengala (RB) y Aglutinación lenta de Wright (SAT) en presencia de EDTA, donde solo un animal (0,19%) presentó anticuerpos (Ac) contra *Brucella spp* a las 2 pruebas. (Paredes, 2012).

En La provincia de Sucumbio García, (2014) utilizó la prueba de Rosa de Bengala; los resultados revelan la prevalencia de brucelosis en un 5.5% (20 casos positivos); en cuanto a la prevalencia de brucelosis bovina. Para determinar los factores de riesgo se realizaron encuestas a los propietarios de cada finca, se comprobó que las principales formas de contagio en caso de presentarse la enfermedad son: el contacto con los animales y el consumo de subproductos contaminados. 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 pausterizada. Por último se analizó las pérdidas económicas por vaca que aborta la cual fue de \$ 530 (García, 2014).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Materiales y métodos

3.1.1. Localización y duración del experimento

El proyecto se lo realizó en la provincia en la provincia de Esmeralda en tres en cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas), que se encuentra a: 01° 06' de latitud Sur y 79° 27' de longitud Oeste, a una altura de 15 m.s.n.m. La investigación tuvo una duración de 120 días.

3.1.2. Condiciones agroclimáticas

Las condiciones meteorológicas se resumen en el cuadro 1

Cuadro 1. Condiciones agroclimáticas en la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.2014.

Parámetros	características
Lluvia. mm	1200
Humedad relativa. %	80 - 88
Altitud. m s n m.	15
Temperatura media. °C	21 - 25
Heliofania. h. luz	998.08
P H	6 a 6.5
Textura del Suelo.	Franco - arcilloso - arenoso.
Zona Ecológica.	Bh
Topografía	irregular

Fuente: INHNI. 2014.

3.1.3. Materiales y equipos.

Los materiales de campo que se utilizaron en la investigación fueron los siguientes.

Cuadro 2. Materiales y equipos en la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas.2014.

Descripción	Cantidad
Animales	
Bovinos	300 U
Materiales de Campo	
Tubos vacutainer (tapa roja)	300 U
Jeringuillas de 5 ml	300 U
Gel refrigerante (pilas)	2 U
Termo	1 U
Tablero	1 U
Equipos de Laboratorio	
Computador	1 U
Refrigeradora	1 U
Centrífuga	1 U
Antígeno Rosa de Bengala (ml)	12
Reloj	1 U
Eppendorf	300 U
Puntas azules	9000 U
Alcohol 90 grados (ml)	150
Micropipeta	2 U
Punta amarilla	9000 U
Mandil	1 U
Toallas	1 U
Guantes	1 U
Mascarilla	1 U
Agua destilada (ml)	50

3.1.4. Etapa de laboratorio.

Las muestras de sangre recolectadas se sometieron a un proceso de centrifugación con el objeto de separar el plasma y el suero sanguíneo, se colecta el suero sanguíneo, posteriormente se almacena y se mantienen en congelación a - 20°C.

3.1.4.1. Pruebas serológicas utilizadas en la investigación.

En la determinación de la prevalencia e incidencia de brucelosis bovina se emplearon las siguientes pruebas de diagnóstico: Rosa de Bengala (RB) como prueba tamiz o de screening, la cual nos permite identificar animales con presencia de *Brucella abortus* y descartar los animales positivos por presencia de anticuerpos vacúnales.

3.1.4.2. Prueba Rosa de Bengala.

Procedimiento:

- ❖ Se colocó la plaqueta de vidrio limpia y seca sobre el aglutinoscopio.
- ❖ Con la micropipeta automática se colocó sobre la placa 30µl de suero sanguíneo.
- ❖ Con la micropipeta automática se colocó 30µl del antígeno cerca de la gota de suero.
- ❖ Se mezcló bien el suero con el antígeno, utilizando palillos de madera, abarcando una superficie circular de 2cm de diámetro aproximadamente.
- ❖ Se aplicó un ligero movimiento rotatorio en sentido horario y anti horario durante cuatro minutos.
- ❖ Finalizado los 4 minutos se colocó la placa en el aglutinoscopio para detectar cualquier grado de aglutinaciones.

- ❖ La lectura e interpretación de los resultados se determinaron según los siguientes criterios:

POSITIVOS. Cuando la mezcla suero–antígeno forma cualquier grado de aglutinaciones.

NEGATIVOS. Cuando la mezcla suero-antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos. (SENASA, 2009)

3.1.5. Metodología

3.1.5.1. Campo

Se realizaron 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 se designó para cada cantón. Se extraerán de la vena coccígea media o yugular, 3 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 congelo.

3.1.5.2. 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 detectó 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, se enjuagara y se secó, después se desinfectó 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 0,03mL, 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 debe estar 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 300 animales.

3.1.5.3. Diseño experimental

Se realizó un análisis estadístico descriptivo cualitativo de los resultados empleando cuadros estadísticos para la presentación de los resultados, los mismos que se caracterizan la población estudiada

3.1.5.4. Análisis Porcentual

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.

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

Para determinar el grado de prevalencia de la brucelosis en cada cantón a la cual incluirán 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.

3.1.5.5. Conceptos estadísticos para el estudio epidemiológico de la enfermedad.

3.1.5.5.1 Sensibilidad.

Entendemos por sensibilidad de una prueba el grado de capacidad que tiene para detectar animales infectados por el agente específico, en nuestro caso Brucella. De esta manera, si la prueba que usamos da reacciones positivas en 98 animales de 100 bovinos infectados diremos que la prueba tiene 98 % de sensibilidad. El 2 % restante son " falsos negativos" (Szyfres, 2000).

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

Dónde:

VP= Verdaderos positivos.

FN= Falsos Negativos.

3.1.5.5.2 Especificidad.

Por especificidad en cambio medimos el grado de capacidad de la prueba de detectar el mayor número de infecciones específicas y el menor número de "falsos positivos". Una prueba altamente específica la cual será la que de reacciones de "falsos positivos". Si de 100 animales no infectados, la prueba da reacciones positivas en 5 animales, decimos que la misma tiene una especificidad del 95%. Una prueba poco específica es causa por consiguiente del sacrificio de animales sanos y de pérdidas económicas innecesarias (Szyfres, 2000).

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

Dónde:

VN= Verdaderos negativos

FP= Falsos positivos.

3.1.6. Manejo de la investigación

Para determinar el número de animales a muestrearse, se consideró el número de bovinos que están localizados en los tres cantones de la provincia de Esmeraldas que tiene una población de 7545 vacas mayores a tres años, se tomaron 3cc de sangre por cada individuo adulto del total de 300 animales. Tomando los parámetros de confiabilidad del 95% y de error del 5%. Para lo cual se calculó de la siguiente manera:

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q \cdot N}{e^2 \cdot (N - 1) + Z^2 \cdot p \cdot q}$$

Dónde:

n =? (Muestra)

e = 5% = 0.05

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

N = 7545 (universo)

$$\left. \begin{array}{l} p = 0.50 \\ q = 0.50 \end{array} \right\}$$

$$n = \frac{(1,81)^2 \cdot 0,50 \cdot 0,50 \cdot 4545}{(0,05)^2 \cdot (7545 - 1) + (1,81)^2 \cdot 0,50 \cdot 0,05}$$

$$n = \frac{0,8190 \cdot 7545}{(0,0025) \cdot (7544) + 0,8190}$$

$$n = \frac{6179,355}{18,86 + 0,8190}$$

$$n = \frac{6179,355}{19,679}$$

Dando un resultado de 314 animales de los cuales se tomaron.

N = 300 animales

Las muestras sanguíneas de los animales se tomaron de la vena coccígea situada en la cara ventral de la cola del animal o de la vena yugular, de 3 cc con jeringa descartable, el área previa a la extracción de la muestra fue limpiada y desinfectada prolijamente, con algodón y alcohol. La sangre extraída se la depositó en tubos vacutainer que fueron debidamente rotulados con el nombre del propietario, número o nombre del animal; y ubicados en un termo térmico, luego fueron llevadas al laboratorio de biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Las muestras en el laboratorio fueron centrifugadas a 5.000 r.p.m por un tiempo de 5 a 8 minutos para obtener el suero sanguíneo que fue utilizado en el análisis de seroaglutinación mediante la prueba de rosa de bengala, en la cual se aplicó la técnica ante mencionada.

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados y Discusión

4.1.1. Prevalencia de brucelosis bovina en tres cantones de provincia de Esmeraldas (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas).

El análisis de las pruebas serológicas realizadas a las muestras sanguíneas de los hatos bovino de los tres cantones muestran los siguientes resultados: En el Cuadro tres podemos observar que en el cantón Eloy Alfaro encontramos 18 casos verdaderos positivos y 82 caso falso positivo o negativo, en el cantón Muisne encontramos 21 casos verdaderos positivos y 79 casos falso positivos o negativos. Esto resultados están por encima a los de Escobar (2011) quien presentó diferentes porcentajes de infección por *Brucella abortus*, registrándose el mayor porcentaje en los bovinos pertenecientes a la provincia de Carchi con 8.52 % de incidencia, 0.75 % en los bovinos de la provincia de Imbabura y el 0.36 % en los bovinos pertenecientes a la provincia de Pichincha, mientras que de manera general en la región sierra norte esta enfermedad se halla diseminada en el 1.80 % de los bovinos existentes.

Cuadro 3. Prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas. 2014.

Cantones/ # de animales	Número de casos		% de casos	
	Positivos	Negativos	Positivos VP	Negativos FP
Eloy Alfaro/100	18	82	18	82
Muisne/100	21	79	21	79
Esmeraldas/100	16	84	16	84

4.1.2. Prevalencia aparente prueba Rosa de Bengala.

El estudio de los resultados de las pruebas serológicas determina que en los tres cantones de los hatos ganaderos de la provincia de Esmeraldas existen 55 casos verdaderos positivos de un total de la población que fue muestreada de 300 animales; lo que permite determinar 55 casos afectados determinados por la prueba de aglutinación rosa de bengala, obteniendo una prevalencia aparente (PA) para estos cantones de 18.33% como lo muestra en el cuadro tres. Este resultado concuerda con el organismo de SESA (2002), quienes manifestaron una media de brucelosis de 18% causando una pérdida anual de más de tres millones de dólares esto es por baja producción de leche, pérdida de crías y reposición de la madre (Cuadro 4).

Cuadro 4. Número de animales muestreados y resultados serológicos positivos en la prevalencia de brucelosis bovina Esmeraldas. 2014.

Validos	Frecuencias	Porcentaje Valido	Prevalencia Aparente
Positivo	55	18.33	18.33
Negativo	245	81.67	100.0
Total	300	100	

4.1.3. Característica de las pruebas de diagnósticas para el análisis de sensibilidad y especificidad.

En lo que respecta a la sensibilidad de una prueba diagnóstica es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad. La sensibilidad de la prueba Rosa de Bengala en este monitoreo Determinar la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*)

mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas fue del 18.33%, lo que demuestra que esta prueba tiene una baja sensibilidad con relación a la PCR, por lo cual solo se la recomienda como prueba de screening para darnos un camino para tener hato libre de brucelosis ya que es una técnica rápida y sencilla. Estos resultados fueron superiores a lo de Escobar, (2011) quien en la provincia del Carchi encontró una incidencia de 8.52 % y 0.75% en los bovinos de la provincia de Imbabura y el 0.36 % en los bovinos pertenecientes a la provincia de Pichincha, mientras que de manera general en la región Sierra Norte esta enfermedad se halla diseminada en el 1.80 % de los bovinos existentes.

Por otro lado la especificidad es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un individuo sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos. La especificidad de la prueba Rosa de Bengala en este monitoreo para “Determinar la prevalencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas)” fue del 81.67 %, lo cual permitió establecer que la mayoría de los animales en esta investigación están sanos, pero este tipo de monitoreo hay que realizarlo cada seis meses.

4.1.4. Determinación de las pérdidas económicas

En el cuadro 5, podemos demostrar las pérdidas económicas que causa esta enfermedad en las ganaderías y por ende a las personas que están inmersos a este negocio y que afecta a la economía del ganadero cuando una vaca aborta. Se estima que en las ganaderías de los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas)” de la provincia de Esmeraldas el productor deja de percibir \$ 625,00 por cada aborto, por concepto de venta de leche deja de percibir (\$ 495,00) y por el precio del ternero (\$ 130,00); lo cual da un total de (\$ 625). 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, está perdida no se considera en este cuadro ya que el costo de la reproductora depende del potencial genético (Cuadro 5).

De acuerdo a la estimación de pérdida por vacas abortadas estos resultados están por encima a lo de García (2014) lo cual demostró una pérdida económica por vaca que aborta de \$ 530.

Cuadro 5. Estimación de la pérdida económica en la prevalencia de brucelosis Esmeraldas. 2014.

Parámetros	Provincia de Esmeraldas
Duración de la lactancia (días)	200
Promedio de producción de leche (L) vaca día	5.5
Precio del litro de leche a nivel de finca	\$ 0,45
Sub total pérdida en leche (\$)	495,00
Valor del ternero	130,00
Total de pérdida (\$)	625,00

En el Cuadro 6, se muestra el cálculo de costos de aplicación de la prueba (RB) en Brucelosis bovina incorpora 3 parámetros como son: Costo de recolección de muestras, Costo de envío de muestras al Laboratorio y Costo de análisis en el mismo. El costo del análisis de brucelosis por bovina con la prueba Rosa de Bengala es de \$ 3.0, dando un total de \$ 900 para las 300 muestras analizadas en la investigación.

Cuadro 6. Detalle de Costos de aplicación de la prueba, por animal y totales en la prevalencia de brucelosis Esmeraldas. 2014.

Ítem	Detalle	Cantidad	V. U.	Subtotales
1	Costo de recolección de muestras	300	0,75	225
2	Costo de envío de muestras de laboratorio	300	0,50	150
3	Costo de análisis de laboratorio	300	1,75	525
Total			3	900

La prueba convencional de rosa de bengala aplicada a este tipo de muestra ha demostrado a través de los años unas series de ventajas sobre la prueba serológica, en la que ha sido de gran utilidad en países que han controlado o mantuvieron niveles muy bajos de infección.

Por lo tanto se acepta las dos Hipótesis. La primera dice que “Con la prueba rosa de bengala se determinara la incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) mediante muestreo sanguíneo a los animales expuestos a la infección utilizando las pruebas de diagnóstico serológico Rosa de Bengala (RB). La segunda hipótesis se acepta ya que dice El pesquiasaje serológico de la Brucelosis bovina representa una herramienta certera en la determinación la prevalencia en los tres cantones.

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

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

1. De los 300 animales muestreados en los tres cantones se determinó una prevalencia de 55 animales positivo que dan el 18.33 % donde se detallan a continuación Eloy Alfaro 18 %; Muisne 21% y Esmeraldas 16%.
2. La sensibilidad y especificidad de la prueba rosa de bengala en la determinación de la prevalencia se determinó en un 18.33 % y 81.67%, confirmando que esta prueba tiene una baja sensibilidad y solo se la puede utilizar como prueba de screening.
3. Al ser la brucelosis una enfermedad zoonótica, en la zona de estudio el consumo de leche cruda o no pasteurizada se puede considerar como el principal mecanismo de contagio de la enfermedad en el humano.
4. Las pérdidas económicas provocadas por la brucelosis en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas
5. El costo de análisis por animal fue de \$ 3

5.2. Recomendaciones

Analizadas las conclusiones, se recomienda:

1. Eliminar los animales detectados como positivos de los hatos ganaderos para evitar el contagio de la enfermedad a animales sanos y así reducir la prevalencia e incidencia de brucelosis bovina en los predios en la provincia de Esmeraldas.
2. Es indispensable que los animales sean correctamente inmunizados, estableciendo un calendario de vacunación especificando: la edad de vacunación, dosis administrada, vía de administración, calidad y manejo de la vacuna. Se recomienda vacunar con la cepa 19 como dosis única que

confiere inmunidad duradera o la cepa RB 51 con revacunación a los 12 meses

3. Al ingresar o comprar animales vacunado destinados a la reproducción con el fin de llevar un control epidemiológico de esta enfermedad.
4. Se debe fomentar charlas y campañas educativas para concientizar a esta población sobre los riesgos tanto para animales como para el hombre que puede causar la brucelosis.

CAPÍTULO VI.

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía consultada

- Aréstegui, M; Gualtieri, C; Domínguez, J.** 2005. 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: 23-07-2014].
- Bustamante, U y Cedeño, P.**2009. Incidencia de Brucelosis bovina en el cantón Santa Ana de la provincia de Manabí. Tesis de Grado. Universidad Técnica de Manabí. Manabí.
- Calle, J.** 2009. Control y Erradicación de *Brucella abortus* en establos lecheros. Lima-Perú.
- Castro H, González S, Prat M.** 2005. Brucelosis: Una revisión práctica. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2005; 39(2): 203-16.
- Escobar, F.** 2011. Incidencia -Prevalencia y Plan de Control de Brucelosis bovina en hatos lecheros de la Sierra Norte Ecuatoriana. Retrieved Enero24, 2013, from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2247/1/7T1155.pdf>.
- García D.**2014. Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la provincia de Sucumbios. Tesis de Grado para obtención del título de Ingeniero Agropecuario. UED. UTEQ. Quevedo.
- Gorvel J, y Moreno E.**2002. *Brucella* intracellular life: from invasión to intracellular replication. *Veterinary microbiology* Vol. 90: Pp 281-297.
- Herrera, E., Hernández, L., Palomares, G., Díaz, E.** 2007. Study of brucelosis incidence in a bovine dairy farm infected with *Brucella abortus*, where cattle was revaccinated with RB51. *International Journal of Dairy Science.*; 2suppl1:50-57.
- INAMHI.** 2013. Instituto Nacional De Meteorología E Hidrología.www.inamhi.gob.ec.
- Laval E.** 2006. Contribución al estudio histórico de la brucelosis en Chile. *Rev Chil Infect.* 23(4): 362-66.
- López A y Contreras A.** 2004. *Brucella*. *Scand J Infect Dis* Vol. 36: Pp 636-8.

- Mariño, O.** 2000. Brucelosis: metodologías diagnósticas e interpretación de resultados. MVZ Córdoba Vol. 5: Pp 57-60.
- Mantur B, Amarnath S, Shinde R.** 2007. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian Journal of Medical Microbiology 2007; 25(3): 188-202.
- Nicoletti P.** 2002. A short history of brucellosis. Veterinary microbiology Vol. 90: Pp 5-9.
- 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
- Paredes. S.** 2012. Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquín, recinto Cristal de Lelia. Santo Domingo. Tesis de Grado de. Escuela Politécnica Del Ejército Departamento De Ciencias De La Vida. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Pag. 129.
- REDVET. 2005.** Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. Vol.VI N 9. Revisado diciembre 15, 2014, from <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html>
- Rodríguez, A., Orduña, A., Ariza, X., Moriyón, I., Díaz, R., Blasco, J.M., Almaraz, A., Martínez, F., Ruiz, C., Abad, R.** 2002. Manual de Brucelosis. 1ª edición. Junta de Catilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar social (Eds), Catilla, España. Pp139.
- Rodríguez, Y., Ramírez, W., Antúnez, G., Pérez, s., Ramírez, Y., Igarza, A.** 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. Revista Veterinaria REDVET Vol. 6: Pp 1-9.
- Rubio M, del Pozo J, Hernández J, Dorronsoro I et al.** 2002. Diagnóstico de la brucelosis humana. Influencia del pH en la prueba de seroaglutinación y sobre la actividad aglutinante de los anticuerpos IgM, IgG e IgA. Enferm Infecc Microbiol Clin; 20(4): 144-9.
- Samartino E.** 2003. Aspectos Generales de la Brucelosis Bovina. Jornada de Actualización Técnica. INTA, Castelar. Argentina. IV Jornada Científica-

Técnica. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. Argentina. 20 y 21 de Agosto.

- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad agroalimentaria (SENASA).** 2009. Manual de Diagnostico serológico de la Brucelosis Bovina. Consultado el 16 de marzo del 2015 de <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/documenti%. DocumentoManualBrucelosisSENASASA202009.PDF>.
- SESA** (Servicio Ecuatoriano de Sanidad Animal). 2002. Control de brucelosis Bovina. Manual Técnico, Quito, Ec.
- Szyfres, B.** 2000. *Brucelosis- Interpretación del Diagnostico serológico*. Retrieved 12 12, 2012, from IICA-SENASA.
- Tawfiq, J.** 2008. Therapeutic options for human brucellosis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008; 6(1): 109-20.

CAPÍTULO VII.

ANEXOS

Anexo 1. Figuras de la investigación



Figura 1. Ganadería en el cantón Eloy Alfaro



Figura 2. Ganadería en el cantón Esmeraldas.



Figura 3. Toma de las muestras en Cantón Muisne



Figura 4. Toma de las muestras en la vena coccígea



Figura 5. Recuperación del suero para el traslado al laboratorio

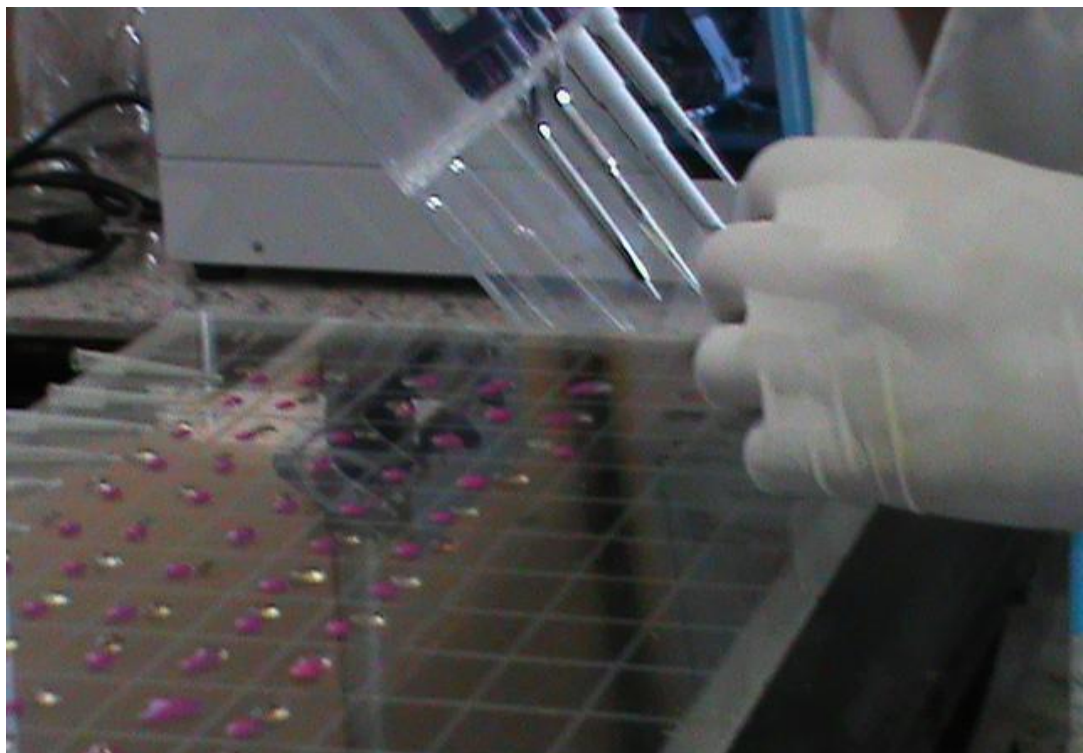


Figura 6. Conjugación de la muestra y antígeno (RB)

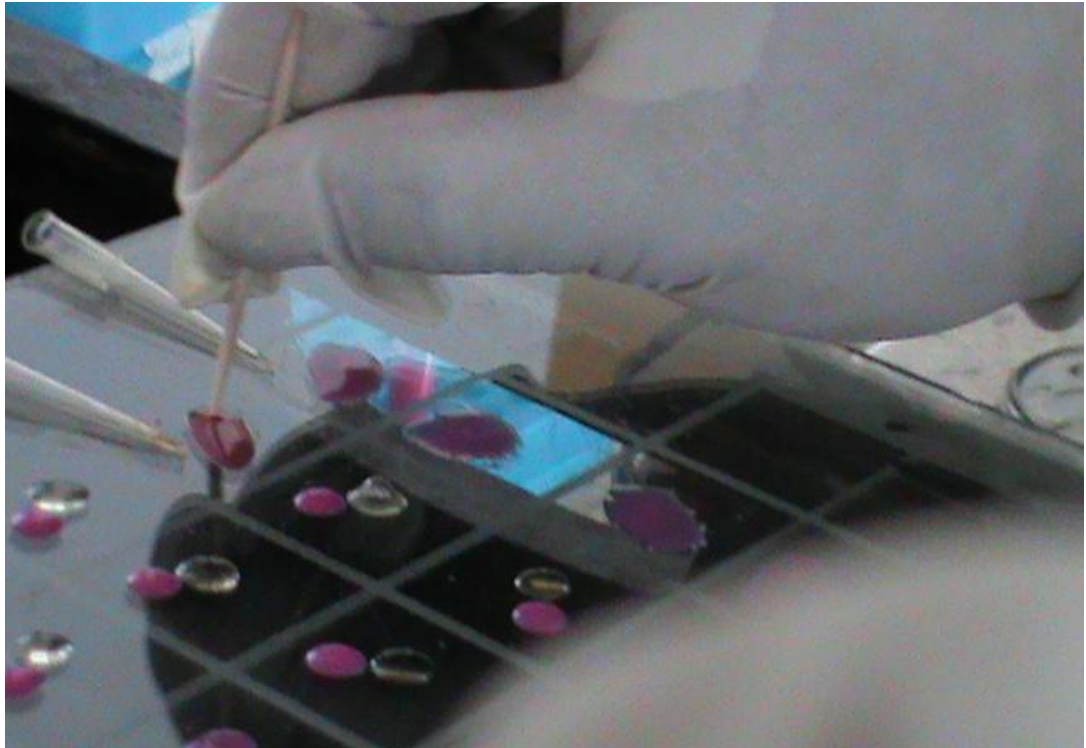


Figura 7. Mezcla de antígeno con el suero



Figura 8. Verificación de los resultados en el aglutinoscopio