



# **UNIVERSIDAD DE LAS AMERICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**Evaluación de la incidencia de brucelosis bovina de las haciendas “El Prado” y “Aychapicho”, localizadas en la provincia de Pichincha-Ecuador, mediante aplicación de técnicas inmunodiagnósticas.**

Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos para optar por el título de Título profesional de Médico Veterinario Zootecnista.

Profesor guía.  
Jorge Ron Román. MVZ. M.Sc.

**Autor.**  
**JOSÉ LUIS ESPINOSA BENÍTEZ.**

**Año**  
**2011**

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema y tomando en cuenta la Guía de Trabajos de Titulación correspondiente.

Jorge Ron Román. MVZ. M.Sc.  
CC. 170950512-5

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Yo **José Luis Espinosa Benítez** “Declaro que este trabajo es original, de mi (cuenta) autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

José Luis Espinosa Benítez.  
CC.171679117-1

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de las Américas, a la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias – Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por el tiempo que me han acogido; a sus directores en especial a Tomás Villon, quien siempre supo extender una mano amiga dentro de la universidad, a los profesores, en especial a Jorge Ron Román y Renán Mena, por los conocimientos y habilidades compartidas.

Me gustaría resaltar el apoyo incondicional del Centro Internacional de Zoonosis en el desarrollo de este trabajo, agradecer a su director Prof. Washington Benítez Ortíz Ph.D. y al personal científico de dicho Centro.

Al personal administrativo y técnico de las haciendas en las que se realizó el presente estudio, por su colaboración desinteresada y su apoyo al desarrollo de este trabajo de investigación.

A Jorge Ron Román y Pablo Gonzales Andrade, por el tiempo compartido, las vivencias, por la ayuda y los conocimientos transmitidos; puntales e irrefutables en la elaboración del presente trabajo.

A Esteban Coello y Klever Cuasapaz por su amistad verdadera y compañerismo en las madrugadas, malas noches, por su desprendida cooperación en el trabajo arduo, mal oliente y agotador.

A mi familia, a mis padres y hermana, quienes siempre tuvieron fe en mis capacidades y se han transformado en un pilar fundamental en mi formación.

## **DEDICATORIA**

*A la incansable paciencia de mis padres  
por su ayuda incondicional,  
a mi hermana.*

## RESUMEN

Un estudio epidemiológico de tipo longitudinal, fue realizado en dos haciendas localizadas en la provincia de Pichincha, tendiente a la determinación de la incidencia de brucelosis bovina, entre los años 2007 y 2010. De forma complementaria se determinó la sero-prevalencia de brucelosis en las dos haciendas en estudio para el año 2010, y los posibles factores implicados en el mantenimiento de esta infección en el hato.

Bovinos (n=202) que para el año 2007 fueron serológicamente negativos a las pruebas Rosa de Bengala (RB) y Suero Aglutinación Lenta en Tubo en presencia de EDTA (SAT-EDTA), fueron nuevamente muestreados durante noviembre 2010.

Sueros bovinos (n=202) fueron analizados por las pruebas RB y SAT-EDTA, obteniéndose una incidencia de 4.95% (10/202) (I.C. 2.53 – 9.17%) a nivel general, en tanto que en cada una de las haciendas la incidencia encontrada fue de 2.81% (2/71) (I.C. 0.4 – 10.72%) en El Prado y 6.11% (8/131) (I.C. 2.87 – 12.1%) en Aychapicho. Complementariamente la investigación permitió determinar las prevalencias en El Prado (2.70%; 4/148) y Aychapicho (5.53%; 24/434), encontrándose una prevalencia general de 4.95%, (28/582) con un I.C.= 3.27- 6.96%.

Estos resultados, permiten demostrar que la brucelosis sigue siendo un problema en las dos haciendas intervenidas; poniendo en evidencia que los nuevos casos (n=10) reportados en el período de tiempo 2007 – 2010, manifiestan la presencia de la bacteria en las haciendas intervenidas.

## ABSTRACT

A longitudinal epidemiological study was conducted in two farms located in the province of Pichincha, aimed at determining the incidence of bovine brucellosis, between 2007 and 2010. As a complement we determined the seroprevalence of brucellosis in the two farms studied in 2010, and the possible factors involved in the maintenance of this infection in the herd.

Cattle (n = 202) in the year 2007 were serologically negative to the Rose Bengal test (RB) and slow Serum Agglutination in a tube with EDTA (SAT-EDTA), were sampled again in November 2010.

Bovine serum (n = 202) was analyzed with the RB test and SAT-EDTA, yielding an incidence of 4.95% at a general level (10/202) (CI 2.53 - 9.17%), while in each farms the incidence that was found was 2.81% (2 / 71) (CI 0.4 - 10.72%) in El Prado and 6.11% (8 / 131) (CI 2.87 - 12.1%) in Aychapicho. Additionally the research allowed to determine the prevalence in El Prado (2.70%, 4 / 148) and Aychapicho (5.53%, 24/434), finding an overall prevalence of 4.95% (28/582) with a CI = 3.27-6.96%.

These results help to demonstrate that brucellosis is still a problem in the two farms that were intervened, bringing out the new cases (n = 10) reported in the period 2007 to 2010, demonstrate the presence of bacteria in the farms intervened.

## Tabla de contenidos.

CAPÍTULO I	1
1. EI PROBLEMA.	1
1.1    Objetivos de la investigación.	3
1.1.1    General.	3
1.1.2    Específicos.	3
1.2    Justificación.	4
CAPÍTULO II	7
2. MARCO TEÓRICO.	7
2.1    Microbiología general y clínica del género <i>Brucella</i> .	7
2.1.1    Género <i>Brucella</i> .	8
2.1.2    Taxonomía.	9
2.1.3    Estructura antigénica y composición química.	11
2.1.3.1    Estructura externa.	12
2.1.3.2    Estructura interna.	14
2.1.4    Etiología del proceso infeccioso y mecanismos de transmisión.	14
2.1.4.1    Transmisión.	17
2.1.5    Patogenia.	19
2.1.5.1    Respuesta inmunitaria.	21
2.1.5.2    Aspectos clínicos.	22
2.1.6    Diagnóstico por el laboratorio.	23
2.1.6.1    Métodos de detección directa.	23
2.1.6.2    Métodos de detección indirecta. Serología.	24
2.2    Epidemiología.	26
2.2.1    Situación de la brucelosis en América Latina.	27
2.2.2    Situación de la brucelosis en Ecuador.	28
2.2.2.1    Calculo de Pérdidas Económicas.	30
2.2.3    Prevención.	31
2.2.3.1    Desinfección de granjas.	32



2.2.3.2	Vacunación.	32
<b>2.3</b>	<b>Tratamiento.</b>	<b>33</b>
<b>2.4</b>	<b>Sistemas de producción del ganado.</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO III</b>		<b>37</b>
<b>3.</b>	<b>METODOLOGÍA.</b>	<b>37</b>
<b>3.1</b>	<b>Diseño de la investigación.</b>	<b>37</b>
<b>3.2</b>	<b>Unidad de estudio de la investigación.</b>	<b>37</b>
<b>3.3</b>	<b>Ubicación de las haciendas.</b>	<b>37</b>
<b>3.4</b>	<b>Características de las haciendas en estudio.</b>	<b>38</b>
<b>3.5</b>	<b>Población y muestra.</b>	<b>39</b>
<b>3.6</b>	<b>Variables de la investigación.</b>	<b>40</b>
<b>3.7</b>	<b>Diseño de la investigación.</b>	<b>40</b>
3.7.1	Descripción del sistema de manejo del ganado bovino.	41
<b>3.8</b>	<b>Toma de muestras</b>	<b>41</b>
3.8.1	Materiales de campo.	42
<b>3.9</b>	<b>Técnicas e instrumentos analíticos.</b>	<b>43</b>
3.9.1	Prueba "Rosa de Bengala".	43
3.9.1.1	Reactivos.	43
3.9.1.2	Materiales.	43
3.9.1.3	Procedimiento.	43
3.9.1.4	Interpretación de resultados.	44
3.9.2	Prueba de Wright, sero-aglutinación en tubo (SAT).	45
3.9.2.1	Reactivos.	45
3.9.2.2	Soluciones	45
3.9.2.3	Materiales.	45
3.9.2.4	Procedimiento.	46
3.9.2.5	Lectura de placas e interpretación de resultados	47
<b>3.10</b>	<b>Análisis estadístico.</b>	<b>48</b>

CAPÍTULO IV	50
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.	50
<b>4.1 Análisis descriptivo.</b>	<b>50</b>
4.1.1 Distribución de la muestra.	50
4.1.2 Distribución de la muestra en las haciendas de estudio.	51
<b>4.2 Interpretación de resultados.</b>	<b>52</b>
4.2.1 Resultados de laboratorio.	52
4.2.2 Cálculo de la sero-prevalencia.	53
4.2.2.1 Muestreo realizado en el 2007 (información recopilada por el CIZ).	53
4.2.2.2 Muestreo realizado en el 2010. durante el transcurso de la presente investigación).	54
4.2.3 Cálculo de la incidencia.	55
4.2.4 Análisis de asociación de los factores de riesgo.	55
4.2.4.1 Identificación y localización de las explotaciones.	56
4.2.4.2 Datos generales de las explotaciones.	56
4.2.4.3 Sistema de reproducción.	58
4.2.4.4 Manejo de abortos.	58
4.2.4.5 Diagnostico de brucelosis del año 2010.	59
4.2.4.6 Vacunación.	60
4.2.4.7 Manejo de heces.	61
4.2.4.8 Factores de Riesgo.	61
CAPÍTULO V	64
5. Discusión	64
<b>5.1 Análisis general</b>	<b>64</b>
<b>5.2 Discusiones de factores de riesgo en bovinos, sero-prevalencia e incidencia.</b>	<b>66</b>
<b>5.3 Discusión de los resultados de laboratorio.</b>	<b>67</b>
<b>5.4 Otras especies animales.</b>	<b>68</b>

CAPÍTULO VI	70
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	70
6.1    Conclusiones.	70
6.2    Recomendaciones.	71
BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXOS	81

## Lista de Tablas.

Tabla 2.1 Clasificación taxonómica del género Brucella. _____	11
Tabla 2.2 Trabajos realizados en el Centro Internacional de Zoonosis sobre brucelosis animal. _____	36
Tabla 3.1 Interpretación para el grado de aglutinación en la prueba Rosa de Bengala. _____	44
Tabla 3.2 Relación entre el grado de translucidez y unidades internacionales de Aglutinación (UI) para la prueba SAT-EDTA. _____	47
Tabla 3.3 Análisis de contingencia hacienda El Prado. _____	48
Tabla 3.4 Análisis de contingencia hacienda Aychapicho. _____	48
Tabla 3.5 Análisis de contingencia para las haciendas El Prado y Aychapicho. _	49
Tabla 4.1. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2007. _____	51
Tabla 4.2. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2010. _____	51
Tabla 4.3 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en las haciendas El Prado y Aychapicho, durante el 2010. _____	53
Tabla 4.4 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en la hacienda El Prado, durante el 2010. _____	53
Tabla 4.5 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en la hacienda Aychapicho, durante el 2010. _____	53
Tabla 4.6 Sero-prevalencia por haciendas para el año 2007. _____	54
Tabla 4.7 Sero-prevalencia por haciendas para el año 2010. _____	54
Tabla 4.8 Incidencia por haciendas para el año 2010. _____	55
Tabla 4.9 Manejo de vacunas en la hacienda Aychapicho. _____	60
Tabla 4.10 Manejo de vacunas en la hacienda El Prado. _____	61
Tabla 4.11 Inventario animal de las haciendas El Prado y Aychapicho. _____	62

## **Lista de Figuras.**

Figura 2.1 Prevalencia de Brucelosis Bovina en Ecuador 1979.....	28
Figura 2.2. Mapa de caracterización epidemiológica del Ecuador según prevalencia de brucelosis.....	29
Figura 2.3. Pérdidas económicas por brucelosis en Ecuador.....	31
Figura 4.1. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2010. ....	52

## **Listas de Mapas.**

Mapa 1. Zona de muestreo. \_\_\_\_\_ 50

# CAPÍTULO I

## 1. EI PROBLEMA.

La brucelosis es una patología zoonótica de distribución mundial, conocida desde la antigüedad, sin embargo continúa siendo un problema sanitario y económico (Castro *et al*, 2005). La brucelosis está ampliamente distribuida entre humanos y animales, especialmente en los países en vías de desarrollo; su ocurrencia está relacionada a la existencia de reservorios animales y a las altas tasas de infecciones en el ganado, especialmente cabras y ovejas (OIE, 1996, 2004).

La enfermedad en el bovino depende del estado inmunológico del hato. Hembras gestantes no vacunadas son altamente susceptibles de presentar aborto después del quinto mes de gestación; son secuelas frecuentes del aborto la retención placentaria y la metritis fibrinosa purulenta. Las infecciones mixtas pueden producir metritis aguda con septicemia y muerte consecutiva o bien crónica seguida de esterilidad (Cano & Camacho, 2001).

Los machos presentan orquitis unilateral, con disminución en la producción espermática. Pueden estar afectados uno o ambos sacos escrotales presentando tumefacción aguda y dolorosa, con aumento de hasta dos veces su tamaño normal, aunque los testículos no se encuentren aumentados de tamaño. La tumefacción es persistente y los testículos experimentan necrosis por licuefacción quedando finalmente destruidos. Los toros afectados pueden quedar estériles cuando la orquitis es aguda, pero pueden seguir siendo fértiles si solo se ve afectado un testículo. Pero siguen siendo propagadores de la enfermedad (Cano & Camacho, 2001).

En ambos sexos se debe considerar la inflamación de las articulaciones, especialmente en rodillas y corvejones (Cano & Camacho, 2001).

Una vez infectadas, las hembras preñadas pueden abortar o dar nacimiento a terneros débiles. Los abortos y las concepciones retrasadas causadas por la enfermedad, puede reducir la producción de leche de los cambios en el período de lactancia normal. No todas las vacas infectadas abortan, pero las que abortan lo hacen por lo general en el mes quinto y séptimo de la preñez. Las vacas infectadas abortan por lo general una vez y los terneros nacidos de embarazos posteriores pueden ser débiles y poco saludables (Beef Montana Network, 2011).

Los terneros infectados pueden parecer saludables. En cualquier caso, las vacas infectadas continúan albergando y descargando los organismos infecciosos y deben ser considerados como fuentes peligrosas de la enfermedad. Otros síntomas de la brucelosis incluyen una disminución aparente de la fertilidad, con bajas tasas de concepción, placentas retenidas con el resultado de infecciones (Beef Montana Network, 2011).

El diagnóstico definitivo de brucelosis lo constituye el aislamiento del agente causal, sin embargo, su alto costo, el riesgo latente de contaminación y la falta de disponibilidad lo hacen poco frecuente (Gil & Samartino, 2000); es por ello que el diagnóstico serológico se convierte en una herramienta indispensable para detectar precozmente la enfermedad (Orduña *et al*, 2000).

La propagación dentro del hato ocurre de manera horizontal o vertical.

Transmisión horizontal: Ocurre por contaminación directa, esto es por la libre convivencia entre animales sanos y enfermos, dentro de la cual puede ocurrir la infección inter-especie (Cano & Camacho, 2001).

Transmisión vertical: Provocada por la infección dentro del útero. Situación que constituye uno de los principales problemas en los planes de erradicación de esta enfermedad, ya que si el feto se infecta dentro del primer tercio de gestación y no es abortado, los epítomos del lipopolisacarido serán reconocidos como propios por el sistema inmune provocando que las pruebas diagnósticas



convencionales sean incapaces de identificarlos, por lo que este individuo jugará el papel de portador asintomático (Cano & Camacho, 2001).

En el Ecuador, la infraestructura, la tenencia de la tierra, el tamaño de los predios, el grado de desarrollo institucional y la diversidad de la organización técnica, social y económica no han permitido que los sistemas de producción ganaderos puedan llegar a una completa tecnificación y por lo tanto se continúe utilizando sistemas tradicionales que disminuyen el control sanitario de los animales (León, 2003).

En el Ecuador, los sistemas de manejo del ganado más utilizados son el extensivo tradicional, en el que los animales son liberados por el potrero, o el sistema intensivo que es más bien tecnificado (SICA, 2002).

Es por tanto, posible que la brucelosis presente distinta prevalencia y severidad en las zonas en las que se efectuará el estudio, debido a los diferentes tipos de manejo del ganado que crean contrastes en la exposición a los factores de contagio de brucelosis y a su propagación; así como por la falta de control sanitario, y desconocimiento de los casos positivos.

## **1.1 Objetivos de la investigación.**

### **1.1.1 General.**

- Determinar la incidencia de la brucelosis bovina en las hacienda “El Prado” y “Aychapicho”, mediante la aplicación de técnicas serológicas.

### **1.1.2 Específicos.**

- Determinar la incidencia de brucelosis en los bovinos de las haciendas “El Prado” y “Aychapicho”
- Determinar los posibles factores epidemiológicos de riesgo en las haciendas en estudio.

- Reportar los datos obtenidos a las autoridades y organismos de control.

## 1.2 Justificación.

La brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa, conocida bajo los nombres de aborto infeccioso o enfermedad de bang, y es causada por las especies del género *Brucella*, (*Brucella mellitensis*, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella microti*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella canis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*) el cual afecta a los animales causando el aborto de crías, la infertilidad y la disminución de la producción láctea.

Existen varias especies animales que pueden presentar esta enfermedad, entre los cuales, se puede mencionar a los bovinos, porcinos, caprinos y camélidos principalmente. Sin embargo en Ecuador los animales con mayor susceptibilidad son los bovinos, por su volumen, movilidad y agrupación (MAGAP-Agrocalidad 2009).

El estudio de brucelosis es importante desde el punto de vista zoonótico debido a las repercusiones negativas que presenta la enfermedad, en la producción cárnica y láctea, y sobre los trabajadores vinculados con el manejo de los hatos ganaderos.

Según los datos del Programa Nacional de control de Brucelosis Bovina desarrollado por el MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca), en el año 2009, se ubica a la zona ganadera de los cantones Rumiñahui y Mejía dentro de la región uno (de alta prevalencia), debido a la presencia de brucelosis dentro de los hatos de ganado. No obstante en la actualidad aún no se cuenta con un estudio epidemiológico con respecto a la incidencia de la enfermedad que permita al investigador determinar un perfil histórico de la evolución de la misma.

La presente investigación, procura generar información sobre la incidencia actual de brucelosis bovina en las haciendas “El Prado” y “Aychapicho”, para consolidarse como una fuente de investigación para futuros estudios, la importancia de esta investigación se refleja en que con ésta podremos estudiar de mejor manera cuantos animales se encontraban infectados en el año 2007 y cuántos de estos animales infectados o no, continúan existiendo en cada una de las haciendas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), afirmó que entre las zoonosis, la brucelosis “es responsable del apareamiento de más enfermedades, miserias y pérdidas económicas que cualquier otra zoonosis” (FAO/OMS, citado por Pila-Pérez *et al*, 1997).

No solamente por su significación, desde el punto de vista médico, sino por las graves pérdidas económicas que afecta a la industria ganadera, esta infección constituye uno de los problemas de carácter universal, cuya importancia va gradualmente imponiéndose, a pesar del lamentable descuido con que se le considera en muchos países (Ruiz-Castañeda, 1954).

En la provincia de Pichincha, el 26,8% de su población económicamente activa se dedica a las labores agropecuarias (INEC, 2010), exponiéndose constantemente a un potencial contagio de brucelosis, principalmente por el contacto con el ganado bovino y consumo de sus derivados no higienizados. Las vías de comunicación y la distribución geográfica de la provincia y de las comunidades aledañas, incentivan el comercio de sus productos y animales favoreciendo de esta manera la propagación de la enfermedad en animales y humanos.

El sector pecuario del Ecuador es una base muy importante del desarrollo social y económico. Su dedicación satisface las demandas de la población en alimentos esenciales como la carne y leche y es fuente de generación de mano de obra e ingreso. (León, 2003). Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería

(MAG), actual Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) (MAG, 2009) este sector se ve afectado con pérdidas anuales de USD 5'436.908 millones debido a la brucelosis animal, hecho que preocupa al desarrollo económico del sector.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO.

#### 2.1 Microbiología general y clínica del género *Brucella*.

La brucelosis, denominada también fiebre de Malta o fiebre ondulante, es una enfermedad infectocontagiosa, común a los seres humanos y diferentes especies animales (Pasquereau, 1980).

Durante la guerra de Crimea (1845 – 1856) se observaron numerosos casos de fiebres prolongadas los cuales no podían explicarse con las enfermedades conocidas a la fecha, es por ello que los casos se atribuyeron a la aparición de una nueva enfermedad. Sin embargo bajo la opinión de especialistas en la historia de la medicina se considera que la enfermedad que se describe es la brucelosis, la cual ya era conocida por Hipócrates (400 a.C.), no obstante las primeras descripciones claras sobre la enfermedad son realizadas por Cleghorn en el año 1751.

El agente causal de la brucelosis fue descubierto en 1886 por David Bruce, en el bazo de soldados que habían fallecido por causa de esa nueva infección, más tarde logró aislar el germen de enfermos y pudo demostrar la virulencia para el mono, de la bacteria encontrada que llamó, *Micrococcus melitensis* (Ruiz-Castañeda, 1954).

En 1897, Bang y Stribolt estudiaron la bacteria que ya había sido vista por E. Nocard en 1886 en casos de abortos epizooticos en las vacas, y la nombraron *Bacillus abortus*. En el mismo año y casi al mismo tiempo, Wright desarrolló un método de diagnóstico basado en la propiedad aglutinante del suero sanguíneo de enfermos, sobre cultivos de *Micrococcus melitensis*. En la actualidad esta prueba sigue siendo el “patrón de oro” con el cual se comparan todos los otros métodos serológicos (Young, 1997).

Wright también puso en evidencia la existencia de éstas aglutininas en el suero sanguíneo de vacas que habían abortado (Pasquereau, 1980).

Sin embargo, transcurrieron casi veinte años desde que se descubrió a *Brucella* (1886) hasta que en 1905 Zammit determinó la forma en que el hombre adquiriría la infección, por el contacto con cabras y a través del consumo de leche (Pasquereau, 1980).

Finalmente para 1918, Alice Evans, en el transcurso de sus investigaciones con estas nuevas bacterias, comprobó que existía un estrecho parentesco entre las bacterias encontradas por Bruce y el bacilo de Bang, determinando que se trataban de una misma especie.

Así, para 1920 Meyer y Shaw con el interés de esclarecer el escenario y en homenaje a Bruce, agruparon con el nombre de brucelosis, a las infecciones producidas por las bacterias de este nuevo género *Brucella* (Pasquereau, 1980).

### **2.1.1 Género *Brucella*.**

Las bacterias del género *Brucella*, son pequeños cocos o coco bacilos, Gram negativos de aproximadamente 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5 – 0,7  $\mu\text{m}$  de ancho. No son encapsuladas, son inmóviles y no producen esporas; su crecimiento es estrictamente aeróbico con una temperatura óptima de 37 °C (con un rango de 20 – 40 °C) y un pH del medio óptimo entre 6.6 – 7.4; utilizan glucosa en forma oxidativa, no utilizan lactosa, sacarosa, maltosa ni manitol (Koneman, 1992).

Las especies *B. abortus* y *B. ovis* requieren mayormente una atmósfera suplementaria de CO<sub>2</sub> del 5 -10% para su aislamiento inicial (Thim, 1982).

Los requerimientos nutricionales son relativamente simples. Puede utilizarse cualquier medio de alta calidad basado en peptona y enriquecido con sangre o suero; sin embargo, el aislamiento inicial puede requerir una incubación

prolongada mayor a treinta días. Las cepas de *Brucella* invariablemente son catalasa-positivas, pero las actividades de oxidasa y ureasa así como la producción de H<sub>2</sub>S son variables (Young, 1997).

En la morfología de las bacterias de este género influye, sin duda, la técnica seguida para teñirlas y el medio en que se las cultiva. Estos microorganismos tienen la particularidad de observarse más pequeños con la coloración de contraste que al teñirse con colorantes fuertes y penetrantes (Ruiz-Castañeda, 1954).

El género *Brucella* está compuesto únicamente por bacterias patógenas de mamíferos, con un amplio espectro de hospedadores y una reproducción intracelular facultativa. Están adaptadas al entorno interior de sus hospedadores, por lo tanto, su aislamiento y diferenciación requiere medios especiales y la existencia de laboratorios muy bien equipados y de un grupo de trabajo bien entrenado en el manejo de material infeccioso (Thim, 1982).

### **2.1.2 Taxonomía.**

Desde una perspectiva filogenética, las especies de *Brucella* tendrían un origen común con microorganismos del suelo en estado libre. De acuerdo al análisis del ácido nucleico del gen 16S ribosomal (16S rRNA), la composición lipídica y ciertos aspectos de su fisiología y biología general sitúan a *Brucella* dentro de la subdivisión  $\alpha 2$  de la Clase Proteobacteria, en la que están también otros patógenos intracelulares animales (*Rickettsia*), así como destacados patógenos y endosimbiontes de vegetales (*Agrobacterium* y *Rhizobium*), las propias mitocondrias y ciertas bacterias de la tierra (Young, 1997).

Por tanto, la asociación intracelular con eucariotas, es una tendencia evolutiva compartida con otros miembros de la subdivisión  $\alpha 2$ . Esto es coherente con algunas hipótesis sobre la patogenicidad y explica las reacciones cruzadas con proteínas de otros miembros de la subdivisión en pruebas serológicas y moleculares (Díaz, *et al.*, 2001).

Tradicionalmente la taxonomía del género *Brucella* comprende seis especies, las cuales se diferencian por su especificidad de huésped, epidemiología, patogenicidad en el humano y los animales y por su comportamiento metabólico (Howell, 2001).

Pero si bien se han reconocido éstas seis especies nómicas, los resultados de los estudios de hibridación con DNA-DNA indican que este género en realidad consiste en una especie única (*B. melitensis*) con numerosas biotipos. No obstante, se siguen utilizando las denominaciones de las especies nómicas con fines taxonómicos y para evitar confusiones (Young, 1997).

Las especies pueden ser distinguidas a través de la oxidación de ciertos aminoácidos y carbohidratos, así como, por su sensibilidad a los bacteriófagos. Las especies *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, pueden ser divididas en diferentes biotipos con el análisis del requerimiento de CO<sub>2</sub>, producción de H<sub>2</sub>S, crecimiento en medios teñidos, y su reacción a antisueros mono-específicos (Thim, 1982).

En la tabla 2.1, se muestra la clasificación taxonómica del genero *Brucella*.



Tabla 2.1 Clasificación taxonómica del género *Brucella*.

<b>Super Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>Phylum</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Alphaproteobacteria
<b>Orden</b>	Rhizobiales
<b>Familia</b>	Brucellaceae
<b>Género</b>	<i>Brucella</i>
<b>Especies</b>	<i>Brucella melitensis</i>
	<i>Brucella ceti</i>
	<i>Brucella pinnipedialis</i>
	<i>Brucella microti</i>
	<i>Brucella abortus</i>
	<i>Brucella suis</i>
	<i>Brucella canis</i>
	<i>Brucella neotomae</i>
	<i>Brucella ovis</i>

Fuente. National Library of Medicine 2011.

### 2.1.3 Estructura antigénica y composición química.

En el género *Brucella*, se han estudiado dos tipos de antígenos: estructurales y solubles. En los primeros se encuentran los complejos de lipopolisacárido (LPS) correspondientes a las formas lisas y rugosas de la bacteria (LPS-S y LPS-R). Las moléculas de LPS de cada una de las especies clásicas de *Brucella* (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*), cuando se encuentran en fase lisa, son portadoras de los epítomos A y M, cuya distribución cuantitativa varía en los distintos biotipos. El compartir estos determinantes antigénicos podría explicar la reactividad cruzada entre las tres especies (Mellado, 1996).

### 2.1.3.1 Estructura externa.

La membrana externa es rica en fosfatidilcolina a diferencia de la perteneciente a las enterobacterias relacionadas con ella, que es rica en fosfatidiletanolamina. Su componente más abundante y mejor estudiado es el lipopolisacárido (LPS), que se conoce también con el nombre de endotoxina. En él, se distinguen tres regiones: el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana, un oligosacárido intermedio, llamado núcleo, y el polisacárido O (PSO), también conocido como cadena O, ausente o presente con pocos residuos en el LPS-R (Moriyón *et al*, 2001).

El lípido A, es un glicolípido que contiene glucosamina y diaminoglucosa, que en sus grupos amino e hidroxilos presenta sustituciones por ácidos grasos de variada longitud de cadena (Castro *et al*, 2005).

Esta estructura está presente en algunos, pero no en todos los géneros bacterianos poligenéticamente cercanos. Es sintetizado en el lado citoplasmático de la membrana interna y los azúcares son adicionados durante y después de su síntesis a través de una acción secuencial de glicosiltransferasas para construir el núcleo del lípido A el cual es transportado hacia el lado periplasmático de la membrana (Iriarte *et al*, 2004).

El núcleo contiene glucosa, manosa y ácido 3, deoxi-D-mano-2 octulosónico (KDO) y no contiene ni heptosas ni fosfatos. La quinovosamina está presente en el núcleo del LPS-S pero no en el del LPS-R (Castro *et al*, 2005).

Aunque hay datos cualitativos de la composición del LPS su estructura no es bien conocida. Sin embargo, en contraste con la estructura del núcleo de los géneros bacterianos cercanos, el núcleo del LPS de *Brucella* spp. parece tener menos azúcares ácidos, aparte del KDO. (Velasco *et al*, 2000).

De esta probable ausencia de grupos con carga negativa el género *Brucella* se localiza lejos de otros géneros Gram-negativos y ayuda a explicar la marcada resistencia de *Brucella* a los péptidos bactericidas (Iriarte *et al*, 2004).

Existe también evidencia que la estructura misma del núcleo crea impedimento estérico previniendo que los péptidos policatiónicos alcancen el KDO y neutralicen los grupos del lípido A (Velasco *et al.*, 2000).

El PSO es la porción más distal del LPS (Castro *et al*, 2005), éste es un homopolímero lineal compuesto por n-residuos de N-formil perosamina (4,6 dideoxi-4-formamido- $\alpha$ -D-manopiranosilo). La unión entre estos residuos puede ser de dos tipos:  $\alpha$  (1-2) ó  $\alpha$  (1-2) más  $\alpha$  (1-3) (Castro *et al*, 2005).

Esta variación estructural permite el apareamiento de tres tipos básicos de epítopes: C (común para todos los tipos de PSO de *Brucella*), M (presente en PSO con uniones  $\alpha$  (1-3) y A (presente en PSO con uniones que no presenta  $\alpha$  (1-3) o con proporciones de uniones  $\alpha$  (1-2) y  $\alpha$  (1-3) mayores a (4:1) (Iriarte *et al*, 2004).

Este hecho es de mucha importancia en la determinación de los biotipos que se establecen a partir de la alternancia de las uniones entre residuos en el PSO (Castro *et al*, 2005). Algunos estudios demuestran que el S-LPS de *Yersinia enterocolitica* O:9 porta el homopolímero de N-formil-perosamina con uniones  $\alpha$  (1-2), por consiguiente, podría ser idéntico al PSO de *Brucella abortus* biotipo 1 (Perry & Bundle, 1990, citado por Iriarte *et al*, 2004).

Las proteínas de membrana externa (OMPs) se asocian con los LPS, dentro de éstas se encuentran las proteínas mayores, que se clasifican en tres grupos de acuerdo a sus pesos moleculares (Cloeckert *et al*, 2002; Salhi *et al*, 2003) y se encuentran expuestas en la membrana externa, pero son menos accesibles en las cepas lisas que en las rugosas, debido al impedimento estérico ocasionado por las cadenas O del LPS de las primeras. Mediante el empleo de anticuerpos

monoclonales se han identificado otras proteínas de membrana menos abundantes que se denominan proteínas menores, siendo algunas de ellas lipoproteínas (Cloeckert *et al.*, 1999).

*Brucella* contiene un polisacárido denominado hapteno nativo (HN), que es químicamente idéntico a la cadena O, pero no está unido al núcleo (Moreno *et al.*, 1992). Se ha descrito un tercer polisacárido conocido como poli B, que se obtiene a partir de la cepa mutante en fase rugosa *B. melitensis* 115, por tratamiento con ácido tricloroacético 0,2 M y que para algunos autores sería químicamente equivalente al HN. (Castro *et al.*, 2005).

#### **2.1.3.2 Estructura interna.**

Las proteínas citoplasmáticas de las bacterias del género *Brucella* son específicas de ese género y la mayoría son compartidas por todas las especies. Algunas de estas proteínas son de interés diagnóstico, como por ejemplo la glicoproteína  $\alpha 2$  termorresistente, la misma que está involucrada en la síntesis de riboflavina, que aparece en la fase activa de la infección y la proteína periplásmica BP26 (Castro *et al.*, 2005).

Además, en el citoplasma de las bacterias, también existen antígenos que parecen jugar en la respuesta de hipersensibilidad retardada (Mellado, 1996).

#### **2.1.4 Etiología del proceso infeccioso y mecanismos de transmisión.**

La brucelosis es una enfermedad zoonótica, de ahí, que la fuente principal de contagio sean los animales infectados, los productos derivados de leche no pasteurizada tales como crema, mantequilla, queso fresco, helados de crema; adicionalmente los desechos como orina, sangre, carcasas, y productos del aborto (Dogannay & Aygen, 2003), son la base para la prevalencia de la enfermedad.

Las principales especies de contagio son aquellas implicadas en la producción pecuaria (WHO, 2006).

El riesgo de contraer la enfermedad y su severidad está relacionado y determinado por el tipo de *Brucella* a la cual un individuo está expuesto. Cada cepa de esta especie tiene virulencia y patogenicidad diferentes como se explica a continuación.

*B. abortus* es la causa de infección más extendida en el ganado, dicha cepa provoca una infección que es muchas veces subclínica y es menos severa que la provocada por otras cepas como *B. canis* y *B. suis*. El ganado bovino es la fuente más importante en la diseminación de ésta cepa, no obstante otras especies animales como los perros son de gran importancia en áreas rurales donde los animales comparten los mismos nichos ecológicos (Acha & Szyfres, 2001).

*B. mellitensis* es la cepa más frecuentemente reportada en casos de enfermedad en humanos y, es la especie más virulenta que se asocia a enfermedades severas del tipo agudo (WHO, 2006); este organismo está asociado normalmente a la infección de cabras y ovejas.

*B. suis*, cepa de *Brucella* limitada al ganado porcino y algunas veces a animales de vida silvestre, tiene una ocurrencia más restringida y como fuente de infección en el humano es importante a nivel local (WHO, 2006); la fuente de infección y la virulencia de este organismo varía de acuerdo al biotipo, pudiendo ser los cerdos, los conejos y las liebres las especies diseminadoras (OIE, 2008).

*B. canis*, cepa de *Brucella* que tiene potencial zoonótico y afecta al género caninos a través de la alimentación, contacto cercano y fluidos corporales, está extendida en muchos países y es de importancia en infección en perros domésticos y callejeros, pero no está frecuentemente asociado a

enfermedades en humanos, la cual por lo común suele suceder como una infección leve (WHO, 2006).

Por tanto, ocurre que *B. abortus* y *B. mellitensis* son las cepas más relacionadas a infecciones endémicas de brucelosis, sobre todo en zonas agropecuarias; mientras que *B. suis* y *B. canis* están relacionadas con brotes esporádicos de la enfermedad, comúnmente relacionados a brotes epizoóticos.

A su vez, el contagio está influenciado por la especie del animal hospedador que actúa como fuente de infección. *Brucella* spp. puede sobrevivir por largos períodos en sustratos como: el polvo, estiércol, agua, lodo de establos, fetos abortados, suelos, carne y productos lácteos.

El tiempo preciso de sobrevivencia depende de variables como la naturaleza del sustrato en el que las bacterias han sido depositadas, número de organismos definido como el inóculo que ha sido excretado, temperatura ambiental y la luz del sol a la que están expuestas, pH del medio, así como, presencia de otras bacterias contaminantes patógenas o no patógenas que pueden inhibir el desarrollo de las bacterias del género *Brucella* (WHO, 2006).

La brucelosis ocurre también en muchas especies de animales salvajes, pero no es considerada como una fuente principal de infección para los humanos (Acha & Szyfres, 2001).

Las zoonosis, se transmiten naturalmente de los animales a los seres humanos siendo los animales el reservorio principal y el ser humano un huésped accidental. En los animales domésticos produce una infección asintomática o con clínica de orqui-epididimitis en los machos y mastitis o aborto epizoótico en las hembras; en tanto que la infección en humanos se presenta como una infección de variado polimorfismo clínico (Abadia & Picu, 2005).

La transmisión zoonótica de la brucelosis, se produce a través de dos tipos de mecanismos claramente definidos: por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación de productos contaminados, o por vía indirecta a través de la ingestión de leche o derivados lácteos contaminados (Almaraz & Rodríguez, 2001).

Asimismo es posible que las verduras crudas y el agua contaminada con excreta de animales infectados sirvan de fuente de infección (Barroso-García *et al*, 2001).

La importancia relativa del mecanismo de transmisión y de las puertas de entrada del agente etiológico varía de acuerdo con el área epidemiológica, los reservorios animales y los grupos ocupacionales expuestos al riesgo (Acha & Szyfres, 2001). Pudiendo de esta manera describirse los posibles medios de adquirir la infección en: exposición ocupacional, transmisión alimentaria y transmisión de persona a persona.

#### **2.1.4.1 Transmisión.**

Las especies *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis* se transmiten generalmente entre animales por contacto con la placenta, líquidos fetales y las descargas vaginales de un animal infectado. Los animales eliminan las bacterias después de un aborto o de un parto a término. Aunque los rumiantes generalmente no presentan síntomas después de su primer aborto, pueden convertirse en portadores crónicos y continuar eliminando *Brucella* en la leche y en las descargas uterinas durante las preñeces posteriores (Carmichael *et al*, 1996).

La mayoría de las especies de *Brucella* se encuentran también en el semen. Los machos pueden eliminar estos organismos durante períodos prolongados o durante toda la vida. La importancia de la transmisión venérea varía según las especies, es la vía principal de transmisión para *B. ovis*. Las especies *B. suis* y *B. canis* también se propagan rápidamente por esta vía. Se puede encontrar

*B. abortus* y *B. melitensis* en el semen, aunque no es común la transmisión venérea de estos organismos. Además, se han detectado algunas especies de *Brucella* en otras secreciones y excreciones, como la orina, heces, líquidos de higroma, saliva, y en secreciones nasales y oculares (Bradford, 2010).

La *Brucella* puede propagarse en fomites, como los alimentos y el agua. En condiciones de humedad alta, temperaturas bajas y de poca luz solar, estos organismos pueden permanecer viables durante varios meses en el agua, fetos abortados, estiércol, lana, heno, materiales de trabajo y la ropa. La *Brucella* puede resistir la desecación, en particular cuando existe material orgánico y puede sobrevivir en el polvo y el suelo. La supervivencia es más prolongada cuando la temperatura es baja, especialmente cuando está por debajo del punto de congelación (Carmichael *et al*, 1996).

En general, los huéspedes accidentales se infectan después de tener contacto con los huéspedes de mantenimiento. Aunque es usual que la ubre del rumiante sea colonizada durante el curso de una infección, también puede infectarse por contacto directo (por ejemplo, bacterias en las manos de los ordeñadores). Esto puede dar como resultado la eliminación a largo plazo de especies que no se encuentran normalmente en la leche de los rumiantes, como la *B. suis*. (Cloeckaert *et al*, 2002).

En el laboratorio y probablemente en los mataderos, *Brucella* puede transmitirse en aerosoles. Las fuentes comunes de infección en las personas incluyen el contacto con productos de abortos de animales; ingestión de productos lácteos no pasteurizados de vacas, pequeños rumiantes o camellos; ingestión de carne cruda u otros productos cárnicos con poca cocción; contacto con cultivos de laboratorio y muestras de tejido y la inyección accidental de vacunas atenuadas de brucelosis (Carmichael *et al*, 1996).



### 2.1.5 Patogenia.

*Brucella* tiene predilección por el útero grávido, ubre, testículos, glándulas accesorias, linfonodos y cápsulas articulares; así como por diferentes tipos celulares (fagocitos, polimorfonucleares y mononucleares), de esta manera se establece la infección en tracto reproductor, glándula mamaria y sistema retículo-endotelial (Cano & Camacho, 2001).

Después de la infección, el agente se localiza inicialmente en linfonodos regionales donde produce hiperplasia - linfoide y respuesta inflamatoria aguda, después se propaga a otros tejidos linfoides, hígado y pulmones, y en animales gestantes a útero y glándula mamaria. La infección congénita en becerros recién nacidos se da como resultado de la infección en útero (Cano & Camacho, 2001).

Durante la diseminación en el organismo, las bacterias que se localizan extracelularmente están expuestas a los mecanismos normales de defensa antibacterianos del hospedero donde quedan atrapados y mueren dentro del sistema retículo-endotelial. La acción bactericida se divide en dos partes: pre-fagocítica y post-fagocítica (Whatmore, *et al.* 2007).

*Fase pre-fagocítica*: donde la bacteria se expone a factores séricos (anticuerpos específicos, proteínas no inmunoglobulinas brucélicas), que son encontradas en suero bovino normal. En individuos inmunizados los anticuerpos juegan un papel importante en la expulsión de la *Brucella abortus* (Whatmore, *et al.* 2007).

*Fase post-fagocítica*: donde los microorganismos pueden quedar expuestos a la acción bactericida intracelular como la formación de peróxido, superóxido de hidrógeno, halogenación por el sistema mieloperoxidasa-peróxido de hidrógeno haluro, catiónicas y enzimas digestivas. Desafortunadamente en el caso de cepas virulentas de *B. abortus* los procesos bactericidas intracelulares puede evitarse mediante la liberación de factores de virulencia bacterianos (Whatmore, *et al.* 2007).

El *eritritol*, sustancia producida por el feto y capaz de estimular el crecimiento de esta bacteria, está presente de forma natural en sus máximas concentraciones en placenta y líquidos fetales, siendo posiblemente la mayor responsable de que la infección se localice en estos tejidos (Whatmore, *et al.* 2007).

Así tenemos que:

La infección en vacas ocurre por invasión a linfonodos retromamarios si las vacas se encuentran gestantes, posteriormente se produce una bacteriemia periódica que produce una infección en útero y placenta, la mayoría de las vacas abortan una vez, y de forma excepcional dos o tres veces (Whatmore, *et al.* 2007).

a) Al producirse la invasión del útero grávido, las lesiones comienzan a manifestarse en la pared del órgano, pero como la luz del órgano es prontamente ocupada, se produce una endometritis ulcerosa grave de los espacios intercotiledonarios. Posteriormente son infectados tanto líquidos fetales como cotiledones placentarios provocando la destrucción de las uniones carúncula-cotiledón (Whatmore, *et al.* 2006).

Al provocarse la necrosis de estas uniones se produce la muerte del feto debida a la multiplicación acelerada de la bacteria en placenta y útero, esto interfiere con el suministro de oxígeno y nutrientes de la madre al producto, esto provoca agonía fetal, y dependiendo de su desarrollo, el producto puede llegar a término o finalmente morir. El feto puede permanecer muerto en el útero alrededor de 24 a 72 horas, iniciando un proceso de autólisis que producirá endotoxinas secundariamente a la muerte del feto. El aborto se produce principalmente en los últimos tres meses de gestación (Whatmore, *et al.* 2007).

El feto no presenta lesiones patognomónicas, pero es común encontrar bronconeumonía. La placenta se observa edematosa con lesiones infamatorias y cotiledones necrosados (Whatmore, *et al.* 2006).

b) El curso de la infección en machos es similar que en hembras, solo que en ellos se infectan los testículos y glándulas accesorias por la presencia de eritritol, el cual se produce en el epidídimo (Whatmore, *et al.* 2007).

La infección provoca ocasionalmente orquitis y epididimitis unilateral con tumefacción aguda y dolorosa. Esto nos permitirá encontrar posteriormente áreas de adherencia focales entre la túnica vaginal y el testículo, respectivamente. Las lesiones granulomatosas espermáticas pueden producir fibrosis intersticial, lo cual repercutirá en la libido del animal así como en la cantidad de semen producido (Cano & Camacho, 2001).

#### **2.1.5.1 Respuesta inmunitaria.**

La respuesta inmunitaria humoral frente a la brucelosis se caracteriza por una producción inicial de anticuerpos IgM e IgG específicos frente a los antígenos de *Brucella*, fundamentalmente frente al lipopolisacárido, que aumenta rápidamente después de producirse la infección (Orduña *et al.*, 2001b).

La inmunoglobulina específica M (IgM) constituye la primera línea de defensa ante la infección, manteniéndose presente por varias semanas o meses, al momento que empieza a disminuir, los anticuerpos IgG incrementan su presencia y se mantienen en la sangre en bajas cantidades por meses o años. Los anticuerpos IgG están presentes en infecciones recurrentes (Smits *et al.*, 2003).

La respuesta inmunitaria humoral ha mostrado ser ineficaz en la eliminación de la infección, lo que origina que la evolución de la enfermedad dependa fundamentalmente de los sistemas de defensa celular tanto específicos como inespecíficos (Orduña *et al.*, 2001c).

Debido a que este organismo se replica dentro de la célula huésped es lógico que una respuesta inmune efectiva deba incluir una respuesta inmune mediada por células. La inmunidad se basa principalmente en la producción de interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) y anticuerpos IgG<sub>2</sub>. La producción del interferón resulta en la activación de las células del sistema inmune innato que contribuyen a la activación de la inmunidad tipo 1, y los anticuerpos IgG<sub>2</sub> son efectivas opsoninas que promueven la fagocitosis de las bacterias (Baldwin & Goenka, 2004).

La activación del complemento por la vía alterna, estimulado por el lipopolisacárido, explica en parte el papel de contención de la infección del suero en las primeras fases de la enfermedad. Sin embargo, el LPS de *Brucella* se caracteriza por ser un activador del complemento más débil que el LPS de las enterobacterias, lo que estaría relacionado con una mayor resistencia de *Brucella* a los factores séricos (Orduña *et al*, 2001a).

Estudios recientes indican que el suero fresco, y por tanto con complemento, de animales vírgenes de infección o de animales infectados recientemente es capaz de destruir "in Vitro" a *Brucella*. Sin embargo, el suero fresco de animales infectados con anterioridad y con complemento e IgG específica frente a *Brucella* (y por tanto con el mecanismo de activación del complemento por la vía clásica) es ineficaz para la destrucción *Brucella*. Esto parece indicar que existe una gran dependencia de las IgM específicas para la activación del complemento por la vía clásica y con efecto sobre la viabilidad de *Brucella*, mucho más que si esta activación dependiera de las IgG específicas (Orduña *et al*, 2001c).

#### **2.1.5.2 Aspectos clínicos.**

La autólisis suele enmascarar las lesiones macroscópicas fetales, aunque pueda observarse una serosis fibrinosa y el contenido del abomaso cambie de color y presente floculos. La placentitis es un signo uniforme. Los cotiledones exhiben necrosis; la placenta intercotiledonica esta engrosada y opaca por un

exudado inodoro, floculento de color amarillo pardo que se acumula entre las membranas materna y fetal. El examen histológico revela una placentitis supurativa (y endometritis de la madre). Otros datos histológicos frecuentes son la bronconeumonía supurativa y la hiperplasia linforeticular del feto (Bradford, 2010).

Los machos presentan orquitis unilateral con disminución en la producción espermática. Pueden estar afectados uno o ambos sacos escrotales presentando tumefacción aguda y dolorosa, con aumento de hasta dos veces su tamaño normal, aunque los testículos no se encuentren aumentados de tamaño. La tumefacción es persistente y los testículos experimentan necrosis por licuefacción quedando finalmente destruidos. Los toros afectados pueden quedar estériles cuando la orquitis es aguda, pero pueden seguir siendo fértiles si solo se ve afectado un testículo. Pero siguen siendo propagadores de la enfermedad (Cano & Camacho, 2001).

En ambos sexos se debe considerar la inflamación de las articulaciones, especialmente en rodillas y corvejones (Cano & Camacho, 2001).

## **2.1.6 Diagnóstico por el laboratorio.**

### **2.1.6.1 Métodos de detección directa.**

El cultivo microbiológico es el método de detección directa más eficaz. No hay requerimientos especiales para la recolección, el transporte o el procesamiento de las muestras y los sistemas comerciales para hemocultivos; brindan muy buenos resultados para determinar la presencia de *Brucella* spp. en sangre y otros fluidos (Bailey & Scott 2004).

Si bien la mayoría de los aislamientos pueden detectarse dentro de los siete días mediante el empleo de sistemas comerciales, se recomienda la incubación prolongada durante treinta días y la realización periódica de sub-cultivos a ciegas en placas de agar sangre y agar chocolate a los siete, catorce y treinta

días, para maximizar la recuperación de bacterias. Todas las placas de subcultivos deben mantenerse durante siete días como mínimo (Dogannay & Aygen, 2003).

En los cultivos, las colonias aparecen pequeñas, convexas, lisas, traslúcidas, no hemolíticas y amarillo pálido y opalescentes después de por lo menos 48 horas de incubación. Las colonias pueden tornarse de color castaño con el envejecimiento (Bailey & Scott, 2004).

#### **2.1.6.2 Métodos de detección indirecta. Serología.**

El aislamiento del agente causal no siempre es posible; las pruebas serológicas desempeñan parte importante en el diagnóstico ordinario de la brucelosis (Alton, *et al* 1988). Por otra parte, constituyen un método rápido, barato y accesible (Moreno *et al*, 1992).

El antígeno brucelar más útil para el diagnóstico de la brucelosis es el LPS en fase lisa (S) debido a que es un antígeno inmunodominante, pero ésta molécula porta epítopes que pueden provocar reacciones cruzadas con otras bacterias Gram-negativas en las que se incluye *Yersinia enterocolitica* O:9, *Escherichia coli* O:157, *Francisella tularensis*, *Salmonella urbana* O:30, *Vibrio cholerae* (WHO, 2006).

##### **a) Prueba Rosa de Bengala (RB).**

Prueba de aglutinación rápida en placa que tiene una alta sensibilidad para el diagnóstico de la brucelosis, es utilizada como una prueba rápida presuntiva (Alton, *et al*; 1988), recomendada únicamente para establecer la presencia de anticuerpos homólogos (House, 2004).

Utiliza como antígeno una suspensión bacteriana de *Brucella abortus* (cepa 99 de Weybridge) inactivada por calor y fenol (0,5%) disuelto en un tampón ácido al que se ha añadido el colorante rosa de bengala, y es útil para el diagnóstico

de la brucelosis causada por *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis* (SYNBIOTICS Co, 2003).

Esta prueba enfrenta el suero sin diluir del paciente a la suspensión de antígeno y resulta positiva ante cualquier grado de aglutinación, sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado (Mancera-Martinez, 2001).

Los resultados que se obtienen con esta prueba deben ser siempre confirmados por otras pruebas que detecten anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, particularmente en áreas donde la incidencia de brucelosis animal es alta. La sensibilidad de ésta prueba es mayor al 99%, pero puede detectar reacciones falsas positivas con sueros de pacientes infectados con *Y. enterocolitica* O:9 y de personas sanas que han tenido contacto con cepas de *Brucella* sin haber desarrollado la enfermedad (WHO, 2006).

Esta prueba es muy sencilla, pero puede ser afectada por la temperatura a la cual se la realiza, la sensibilidad de la prueba puede estar disminuida si el suero y el antígeno no están a temperatura ambiente. Esto hace que esta prueba sea más satisfactoria en el laboratorio que en el campo (Alton, *et al* 1988).

#### **b) Prueba de Sero-aglutinación en tubo (SAT).**

Prueba de referencia para la confirmación serológica de la brucelosis; es la técnica mejor sistematizada y la más utilizada (Moreno *et al*, 1992), es muy útil para el diagnóstico de la brucelosis, siempre y cuando sea bien ejecutada con una preparación de antígeno estandarizada, y títulos que puedan ser expresados en Unidades Internacionales (UI) y a la vez ser correlacionados con el estadio clínico de la infección (WHO, 2006).

El antígeno utilizado en esta prueba es una suspensión concentrada de *Brucella abortus* (cepa 99 de Weybridge) inactivada por calor y fenol (0,5%) y diluida en un tampón de fenol al 0,5%. Ésta suspensión debe ser diluida previamente a una concentración 1/10 en solución fisiológica salina fenolada al 0,5% (SYNBIOTICS Co, 2006).

El problema de definir el título indicativo de una infección activa en SAT, todavía no está resuelto. En general, cada paciente produce una respuesta individual y no es posible predecir el comportamiento de la respuesta en cada caso, mucho menos explicar porque algunos pacientes desarrollan títulos altos mientras que otros tienen valores bajos durante la enfermedad (WHO, 2006).

Esta prueba consiste en un enfrentamiento en tubo o en microplacas de poliestireno, una suspensión de antígeno estandarizada, con diluciones progresivamente crecientes de suero del paciente. La existencia de aglutinación indica la presencia de anticuerpos frente a *Brucella* (Orduña *et al*, 2000).

La especificidad de esta prueba tiene un rango de 99.2-100.0% y la sensibilidad va de 29.1-100.0%, el punto de corte de titulación (cut off) para muestras bovinas es de 30 UI, 25% de translucidez en la dilución 1/25 (Ron Román, 2003).

## **2.2 Epidemiología.**

La infección por *Brucella* se produce de forma natural por ingestión. El material contaminado resulta infeccioso para el ser humano y debe manejarse con cautela. La infección no se transmite con facilidad entre el ganado separado por valla o por caminos. La mayoría de los terneros infectados al nacer no presentan la infección pero se han documentado casos de infección congénita persistente (Bradford, 2010).



### 2.2.1 Situación de la brucelosis en América Latina.

Según la Organización de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud, en América, países como Canadá, Estados Unidos, Cuba, Jamaica y Paraguay han logrado un control eficaz de la brucelosis animal; sin embargo, sólo Estados Unidos y Cuba tienen éxito en los programas de control. En Estados Unidos, solamente no se encuentra libre de brucelosis bovina, los estados de Texas, Louisiana, Florida, Oklahoma, South Dakota, Missouri y Kansas (PANAFTOSA/OPS/OMS, 2000).

Las pérdidas económicas anuales debido a la presencia de brucelosis, sólo para América Latina, han sido calculadas en 600 millones de dólares (Corbel, 1997).

En México, dos estados de las 33 divisiones federativas están a punto de ser reconocidos en fase de erradicación. En América del Sur, hasta el momento los resultados no han sido relevantes. Sin embargo, en el sector pecuarista y de la industria de los países del Proyecto de la Cuenca del Plata, se advierte la prioridad que, en los últimos años, han conferido al control de la brucelosis bovina como un problema a ser eliminado y han realizado el lanzamiento oficial de sus programas de control (PANAFTOSA/OPS/OMS, 2000) .

En Venezuela se reporta que existe una prevalencia de brucelosis bovina, provocada particularmente por *B. abortus*, que se acerca al 10.5% (Vargas, 2002).

En Brasil los reportes de prevalencia entre 1989 y 1998 indican una prevalencia de brucelosis bovina de 4 a 5%; sin embargo, se estima que en la actualidad existe una prevalencia mucho más alta en todo el país (Padilla-Poester et al., 2002).

En Argentina las cifras de prevalencia para el ganado bovino bordean el 10 y 13% y con pérdidas económicas de 60 millones de dólares por año (Sanmartino, 2002).

### 2.2.2 Situación de la brucelosis en Ecuador.

El Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria (SESA) del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), señaló que las provincias más afectadas por esta enfermedad son: Pichincha, Carchi, Imbabura, Cotopaxi, Chimborazo. Por otro lado en la costa ecuatoriana se presenta con menor incidencia; Galápagos es un enclave libre de esta enfermedad (PNSA-MAG, 1979, citado en MAG, 2006).

**Figura 2.1 Prevalencia de Brucelosis Bovina en Ecuador 1979.**

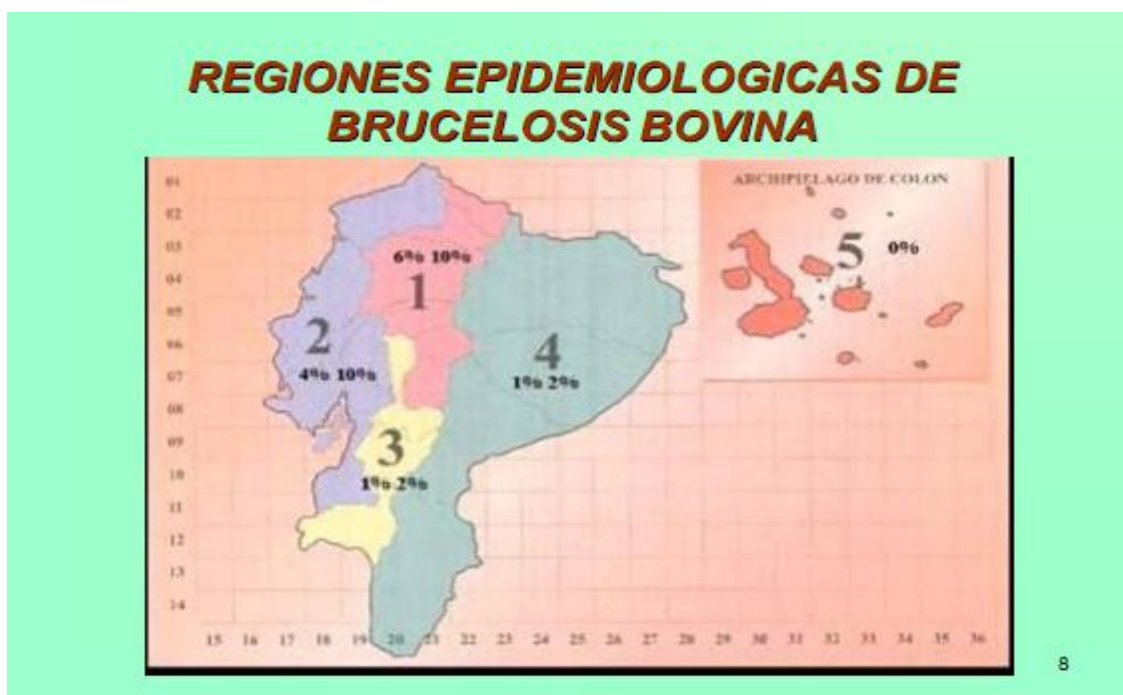
	MUESTRAS RECOLEC	RESULTADOS DE LABORATORIO			% Reacción ( 5% error)
		Positivos	Sospechosos	Negativo	
<b>REGION N° 1</b>					
Carchi	1.119	56	151	992	7.38 - 10.62
Imbabura	1.051	16	35	1.000	1.97 - 4.03
Pichincha	1.585	77	188	1.340	6.66 - 9.34
Cotopaxi	785	38	20	707	4.32 - 7.68
Tungurahua	984	44	60	858	5.39 - 8,61
Chimborazo	813	19	85	509	5.86 - 10.14
	<b>6.097</b>	<b>250</b>	<b>519</b>	<b>5.406</b>	<b>1,97 - 10,62</b>
<b>REGION N° 2</b>					
Esmeraldas	1.427	52	63	1.312	4.12 - 5.88
Manabi	970	46	32	892	4.51 - 7.49
Guayas	1.001	47	93	861	5.38 - 10.62
Los Rios	412	13	35	364	5.33 - 7.47
El Oro	1.204	51	38	1.115	3.78 - 6.22
	<b>5.014</b>	<b>209</b>	<b>261</b>	<b>4544</b>	<b>4.12 - 10,62</b>
<b>REGION N° 3</b>					
Bolivar	653	3	6	644	0.06 - 1.34
Cañar	825	13	17	795	1.05 - 2.95
Azuay	754	2	6	746	0.29 - 1.71
Loja	2.050	18	80	1.952	1.40 - 2.60
	<b>4.282</b>	<b>36</b>	<b>109</b>	<b>4.137</b>	<b>0,06 - 2,95</b>
	<b>4.282</b>	<b>36</b>	<b>109</b>	<b>4.137</b>	<b>0,06 - 2,95</b>
<b>TOTAL NAC.</b>	<b>15.393</b>	<b>495</b>	<b>889</b>	<b>14.087</b>	<b>6,00</b>

Método. Prueba serológica en placa  
Fuente: PNSA-MAG-1979

**Fuente. PNSA-MAG, 1979, citado en MAGAP-Agrocalidad 2009.**

En base a los resultados obtenidos en el estudio de 1979 (PNSA-MAG, 1979, citado en MAGAP-Agrocalidad 2009) se ha delimitado cinco regiones (Figura 2.2) en cuanto a la presentación de la enfermedad.

**Figura 2.2. Mapa de caracterización epidemiológica del Ecuador según prevalencia de brucelosis.**



**Fuente. PNSA-MAG, 1979, citado en MAGAP-Agrocalidad 2009.**

Región uno de alta prevalencia: Localizada en las provincias del norte de la sierra ecuatoriana, es decir la cuenca lechera nacional, provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, con una prevalencia del 1,97 al 10,62%.

Región dos de alta prevalencia: Localizada conformada por las provincias del litoral Guayas, Los Ríos, El Oro, Esmeraldas, Manabí, Santa Elena y Santo Domingo de los Tsachilas con una prevalencia entre 4,2 al 10,62%.

Región tres de baja prevalencia: Conformada por la provincia de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja, al sur del callejón interandino, con una prevalencia de 1,3 al 2,6%.

Región cuatro de baja prevalencia: No se dispone de información sobre las provincias amazónicas, pero se estima que los niveles de ocurrencia, dados los sistemas de producción deben ser bajos.

Región cinco: En 1997 se realizó una encuesta serológica por muestreo en 114 propiedades de las islas Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana, resultando 507 muestras negativas a rosa de bengala, con cuya base se considera a Galápagos como indemne a brucelosis bovina (MAGAP-Agrocalidad 2009).

### **2.2.2.1 Cálculo de Pérdidas Económicas.**

El modelo matemático adoptado para el cálculo de pérdidas económicas por presencia de brucelosis bovina se basa en tres aspectos fundamentales: la ocurrencia de abortos, la disminución en la producción láctea, el reemplazo de hembras vientres enfermas.

Se considera una prevalencia de 6% en la cantidad de vacas existentes en el Ecuador en el año 2009 se calcula una pérdida de USD 1'183.385 (21%) de disminución en la producción de leche; (3%) por pérdidas de crías USD 469.850, (76%) por reposición de vientres, valores totales que totalizan una pérdida anual de USD 5'436.908. Estas pérdidas directas se consideran conservadoras, pues se incrementan significativamente si se incorporan al modelo de cifras más altas de prevalencia encontradas en algunas regiones (Figura 2.3).

Las pérdidas económicas calculadas con este modelo, constituyen cifras referenciales para la adopción de un programa de control y erradicación de brucelosis bovina (MAGAP-Agrocalidad 2009).

Figura 2.3. Pérdidas económicas por brucelosis en Ecuador.

Nº	CONCEPTO	%	2008
1	Población bovina nacional		4'486.020
2	Hembras aptas para reproducción (45,7%)	45,7	2'050.111
3	Mortalidad general de hembras (3,3%)	3,3	67.654
4	saldo hembras		1'982.457
5	Vacas en producción (42%)	42	832.632
6	Vacas brucelósicas (6%)	6	49.958
7	Vacas en producción brucelósicas (42%)	42	20.982
8	Abortos causados por brucelosis (25%)	25	5.246
9	Disminución de producción de leche (litros/lactancia)		396
	En litros por lactancia (20%)	20	4'930.770
10	Reemplazo de vientres (16,6%)	16,6	8.293
			USD Dólares
	Pérdidas en leche (0,25 USD)	21,00	1'183.385
	Pérdidas en crías (30,00 USD )	3,00	157.380
	perdidas por reemplazo de vientres (500,00 US)	76,00	4'146.500
	<b>TOTAL EN DOLARES</b>		<b>5'436.908</b>

Fuente. MAGAP-Agrocalidad 2009.

### 2.2.3 Prevención.

Las prácticas de bioseguridad, es decir, las medidas que minimizan el riesgo de introducir una enfermedad al predio y prevenir su diseminación, pueden incluir cuarentena de los animales, mantenimiento del rebaño en forma cerrada, restricción de las visitas en cuanto a evitar la transmisión indirecta de agentes. Estas son medidas que contribuyen a la salud del rebaño en general e incluyen la prevención de la introducción y diseminación de enfermedades abortigénicas. Por otra parte, el mantener un ambiente limpio y confortable para los animales, una adecuada alimentación que satisfaga sus requerimientos, contribuyen a minimizar el estrés, que puede ser un factor predisponente para desarrollar alguna de las enfermedades que producen pérdidas fetales (Hovingh. 2002).

### **2.2.3.1 Desinfección de granjas.**

Los trabajadores pecuarios deben utilizar ropas y medidas de protección adecuadas cuando están en lugares que podrían estar infectados o utilizan herramientas para el manejo de las excreciones animales, abortos o productos del parto; cada uno de estos lugares y herramientas debe ser lavado con un desinfectante eficaz como el hipoclorito y desinfectantes fenólicos (WHO, 2006).

Los excrementos deben limpiarse todos los días o almacenarse en un área específica hasta su degradación natural, pueden también ser quemados o sometidos a un proceso de desinfección antes de desecharlos. Si los excrementos son líquidos, en este caso la destrucción de *Brucella* puede acelerarse adicionando cianamida de calcio o xileno (WHO, 2006).

Los vehículos que entran o salen de las granjas deben hacerlo a través de piscinas poco profundas con desinfectante o por sobre esponjas embebidas en jabón desinfectante. Las edificaciones deben mantenerse en buen estado previniendo el ingreso de alimañas como ratas e insectos (WHO, 2006).

### **2.2.3.2 Vacunación.**

El método más exitoso para la prevención y control de la brucelosis en los animales es a través de la vacunación, aunque la vacuna ideal no existe (WHO, 2006).

En general, con antígenos de *Brucella* las vacunas con bacterias vivas dan inmunidad más completa y duradera. La bacteria se multiplica en el huésped por períodos limitados, y la resistencia es conferida por la inmunidad del tipo celular (Nicoletti, 2000).

### 2.3 Tratamiento.

*Brucella* es una bacteria intracelular facultativa, lo que le confiere cierta protección ante la presencia de antibióticos dentro del hospedador, por lo que se considera una enfermedad incurable (Cano & Camacho, 2001).

### 2.4 Sistemas de producción del ganado.

Se entiende por sistema de producción agropecuaria, a la forma en que el hombre explota la tierra, disponiendo sobre ella plantas y animales, valiéndose de un conjunto de recursos y técnicas interrelacionadas tales como: clima, agua, suelo, cultivos, ganadería, herramientas, surcos, terrazas, camellones, irrigación, drenaje, fertilización, árboles (Haro, 2003).

Los sistemas de producción en el Ecuador basan su estrategia en los condicionantes arriba anotados; sin embargo, aspectos relacionados con el parcelario (tamaño de las parcelas), aspectos legales como la tenencia de la tierra individual, comunal o cooperativa y los aspectos económicos, influyen drásticamente en la adopción particular de los sistemas de producción (Haro, 2003).

Según el Programa Nacional de Brucelosis al Ecuador (MAGAP-Agrocalidad 2009) podemos dividirlo en regiones por su sistema productivo y prevalencia de la enfermedad.

**Región uno de alta prevalencia.-** Localizada en la cuenca lechera del país integrada por las provincias del centro norte de la sierra, donde predominan los sistemas empresariales de producción lechera que coexisten con formas orientadas al engorde temporal de animales y formas mercantiles simples de producción.

La alta presencia de la enfermedad en esta región se explicaría por la venta de animales enfermos a las unidades campesinas de producción, o por el faenamiento en camales sin condiciones de infraestructura sanitaria, esto a

pesar del alto desarrollo de los sistemas empresariales que realizan prácticas de prevención y control de brucelosis bovina (vacunación, detección de animales enfermos mediante pruebas de laboratorio e identificación de los mismos), a todo esto se suma la falta de control en la movilidad del ganado.

**Región dos de alta prevalencia.-** Integrada por las provincias del litoral presenta características predominantes de producción extractivo-extensivo, de bajo desarrollo tecnológico dedicada al ciclo completo de cría de bovinos de raza cebuina con destino cárnico, rebaños pequeños y grandes extensiones de terreno.

La falta de medidas como el uso de vacunas, la dificultad de detección de animales sospechosos (abortos) y el tratamiento del material contaminado, ha provocado la presencia de la enfermedad, de baja densidad, en los sistemas de producción y bajo contacto animal.

**Región tres baja prevalencia.-** También caracterizada a por los sistemas de producción agropecuaria predominantes, con unidades de producción en su mayoría de tamaño pequeño (minifundios) con rebaños pequeños que conviven con otros animales domésticos. Su escasa integración comercial con la región de alta prevalencia explicaría la baja frecuencia en la presentación de la enfermedad.

**Región cuatro de baja prevalencia.-** Conformada por las provincias de la región amazónica, caracterizada por sistemas de producción que ofrecen condiciones naturales de aislamiento y producción extraen animales con destino a los centros principales de consumo localizados en el litoral y centro norte andino. En Zamora y Morona Santiago la explotación se realiza al sogueo lo cual determina menores oportunidades de contagio.



**Región cinco indemne.-** Integrada por las islas Galápagos. A pesar de de ser considerada como región de preservación natural eminentemente turística, se debe precautelar la situación sanitaria (MAGAP-Agrocalidad 2009).

Los sistemas de producción pecuaria están en relación con el tamaño de la explotación. Las grandes explotaciones pecuarias incluyen un paquete tecnológico que maneja insumos externos considerables. Los medianos, utilizan asimismo asistencia técnica pero en menor proporción. Los pequeños productores casi siempre recurren a prácticas de autosuficiencia, utilizan los recursos de la finca con apoyo de los almacenes donde se expenden productos pecuarios (Haro, 2003).

En general, no son las mejores tierras las que se encuentran en posesión de los pequeños productores. Esta situación unida a la reducida superficie de la propiedad, los obliga a minimizar los riesgos de malas cosechas explotando una amplia variedad de cultivos y ganadería. De este modo los pequeños productores, casi siempre practican una producción mixta (Haro, 2003).

En la tabla 2.2, se muestra las investigaciones efectuadas en el campo de la brucelosis animal, realizadas en el CIZ.

**Tabla 2.2 Trabajos realizados en el Centro Internacional de Zoonosis sobre brucelosis animal.**

<b>Autores</b>	<b>Especie Animal</b>	<b>Zona de estudio</b>	<b>Pruebas utilizadas</b>	<b>Muestras</b>
Ron Román <i>et.al</i>	Bovina	Sierra norte	RB,BPAT,SAT-EDTA,iELISA,CFT,ST	-
Ron Román <i>et.al</i>	Humanos y Bovinos	Andes	ST, cultivo	516
Ron Román <i>et.al</i>	Bovina	Nor-oeste	RB,SAT-EDTA,iELISA	3733
A. Angulo-Cruz <i>et.al</i>	Bovina	Santo Domingo y El Carmen	RB,SAT-EDTA,ST,iELISA	1111
E.Miño-Vega <i>et.al</i>	Bovina	Mejía	RB,BPA,iELISA	1012
Ron Román <i>et.al</i>	Bovina	Nacional		-
Benitez-Capistros <i>et.al</i>	Canina	Mejía	RB,SAT,iELISA	151
Solís Tania Valeria	Bovina	Rumiñahui	RB,SAT,iELISA	
Pontón & Ruiz	Bovina	Nono	RB,SAT,iELISA	704

**RB:** Rosa de Bengala

**SAT-EDTA:** Sero-Aglutinación lenta en tubo con EDTA

**BPAT:** Prueba de aglutinación en placa tamponada

**iELISA:** Ensayo inmunoenzimático de enzima indirecta

**ST:** Skin Test

**CFT:** Test de fijación de complemento

**Fuente.** Investigación directa.

**Elaboración.** El autor.

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA.

#### 3.1 Diseño de la investigación.

Se realizó un estudio de corte longitudinal para el análisis de muestras sanguíneas tomadas en animales de las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” en la provincia de Pichincha, enmarcado en la identificación de nuevos casos positivos para brucelosis entre el 2007 y el 2010, así como la identificación de posibles factores de riesgo, asociados con la introducción y/o mantenimiento de esta infección en las haciendas en estudio.

#### 3.2 Unidad de estudio de la investigación.

El estudio se realizó en la haciendas “El Prado” y “Aychapicho” ubicadas en la provincia de Pichincha; las cuales fueron seleccionadas en base a estudios anteriores realizados por el Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), de la Universidad Central del Ecuador (UCE). La selección de la zona y las haciendas, se basó en la elevada prevalencia de brucelosis bovina reportada en la provincia de Pichincha ( $p= 5,88\%$  y  $10,62\%$ ) según lo reportado por Miño-Vega *et.al* (2003), Angulo & Tufiño (2005), Ron-Román (2003) y Solís (2008); así como a la prevalencia reportada en cada una de las haciendas.

#### 3.3 Ubicación de las haciendas.

El trabajo de campo se realizó en dos hacienda localizadas en la provincia de Pichincha, en la serranía ecuatoriana.

La hacienda “El Prado”, perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Vida, de la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE), está ubicada en el cantón Rumiñahui de la provincia de Pichincha, entre las coordenadas geográficas  $0^{\circ} 23' 06.92''$  S y  $78^{\circ} 24' 57.20''$  O, a una altitud de 2716 msnm.

La hacienda “Aychapicho” de propiedad de Holding DINE ubicada en el cantón Mejía, provincia de Pichincha a 0° 27' 21.84” S y 78° 34' 02.76” O, a una altitud de 2846 msnm, es una unidad de producción del ejército ecuatoriano.

Las pruebas de laboratorio fueron realizadas en los laboratorios del CIZ, ubicado en 3er Piso del edificio del Servicio Médico (Hospital del día), dentro de la Ciudadela Universitaria, en la Universidad Central del Ecuador.

### **3.4 Características de las haciendas en estudio.**

Las dos haciendas en estudio, mantienen a sus animales dentro de un sistema de manejo tipo extensivo, caracterizado por el pastoreo libre de los animales en grandes extensiones de terrenos, movilizándolos de un potrero a otro (rotación) según un cronograma pre establecido.

Las dos haciendas tienen dentro de sus prioridades sanitarias, el control y eliminación de enfermedades infecciosas, dentro de las cuales se encuentra la brucelosis. Para lo cual, se han implementado en cada una de ellas, la vacunación de los animales jóvenes, así como la identificación de reactores positivos a través del muestreo serológico y aplicación de pruebas diagnósticas, y la eliminación de animales positivos.

Así: en la hacienda “Aychapicho” la vacunación a través de la aplicación de la vacuna “cepa 19” se la realiza en terneras de 3 a 8 meses de edad, revacunándolas, con “RB51”, de manera anual a partir del cuarto año.

La prueba que se realiza dentro de esta hacienda para el diagnóstico de brucelosis es el método de “Enzyme Linked Immunosorbent Assay” competitivo (cELISA), análisis que se realiza en suero sanguíneo. El cELISA es una de las pruebas recomendadas por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), dentro del programa de certificación de predios libre de brucelosis. En cuanto a los animales positivos, estos son eliminarlos de manera inmediata.

En cuanto al manejo de parición, no existe un control estricto ya que al poseer un gran número de animales, la sincronización de celos y por tanto la temporización de partos no existe, lo que no ha permitido eliminar o destruir este posible factor de riesgo en la transmisión de enfermedades.

En cuanto al manejo dentro de la hacienda “El Prado”, la primera vacunación contra brucelosis se realiza con cepa 19, en edades comprendidas entre 3 y 6 meses, en tanto que la revacunación con RB51, se realiza anualmente, hasta el fin de la vida útil del animal.

Las pruebas diagnósticas generalmente utilizadas son: “Milk Ring Test” (MRT) y Rosa de Bengala (RB); observándose que los animales positivos a la enfermedad difícilmente son eliminados, debido a la lentitud de los trámites burocráticos dentro de la Escuela Politécnica del Ejército. El control y sincronización de celos es más estricto, lo que ha permitido tener un adecuado sistema de parición, disminuyendo en gran volumen los animales infectados.

En las dos unidades de estudio, los bovinos tienen gran contacto con otras especies animales, tales como: ovinos, equinos y porcino, a las cuales se les debe adicionar los caninos, los cuales pasan libres dentro de los potreros y en muchos de los casos alimentándose de productos de partos o abortados.

### **3.5 Población y muestra.**

En cada una de las haciendas, se procedió al muestreo de los bovinos, con edades superiores a 18 meses; para de esa forma evitar posibles reacciones cruzadas con los anticuerpos generados por la vacuna contra brucelosis (cepa 19) y que pudieran ser detectados por las pruebas inmuno-diagnósticas utilizadas en el estudio.

Entre noviembre del 2010 y marzo del 2011; un total de 582 muestras sanguíneas fueron recolectadas de los bovinos de las haciendas El Prado (n=148) y Aychapicho (n=434).

Puesto que la investigación consistió en el estudio de la incidencia de la brucelosis bovina, fue necesario acudir a los archivos de investigaciones previamente realizadas por el CIZ, específicamente las efectuadas en el año 2007(anexo 4), fecha en la cual se generó información referente a la prevalencia de brucelosis dentro de las haciendas ya mencionadas.

### **3.6 Variables de la investigación.**

Para realizar el análisis estadístico de la incidencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. se consideraron las siguientes variables:

- **Antecedentes:** La hacienda de procedencia, la edad y el género de cada bovino así como la del protocolo de vacunación, se obtuvo a través de una observación directa de los registros de cada animal.
- **Zona en la que habitan:** las haciendas seleccionadas para desarrollar este estudio están divididas en dos zonas considerando primordialmente el volumen y el manejo del ganado utilizado en cada una.
- **Posibles factores de riesgo:** las condiciones que podrían aumentar las posibilidades de obtener resultados positivos en el estudio son: presencia de animales domésticos, introducción de ganado sin registro, movilización del ganado, manejo de heces.

### **3.7 Diseño de la investigación.**

Se realizó un estudio de corte transversal para el análisis de muestras sanguíneas tomadas en animales de las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” en la provincia de Pichincha.

Se calculó la prevalencia aparente, de acuerdo a los resultados de las pruebas diagnósticas, con un intervalo de confianza (I.C.) al 95% en base a la distribución normal del estimador. El análisis de contingencia de las

características de los casos positivos frente a los no positivos fueron comparados con la prueba Chi-cuadrado de asociación para dos variables (Chi-cuadrado de Pearson, prueba exacta de Fisher) y para las variables nominales se utilizaron análisis de correspondencia por medio de tablas de contingencia (Weimer, 2004).

Adicionalmente se realizó una comparación de proporciones con las prevalencias obtenidas en investigaciones anteriores, utilizando prueba de comparación de dos proporciones independientes, para establecer si son o no significativas, tomando en cuenta que en cada zona el sistema de manejo del ganado es diferente (Dawson-Saunders & Trapp, 1993).

### **3.7.1 Descripción del sistema de manejo del ganado bovino.**

En las haciendas estudiadas, se utiliza un manejo bovino extensivo, esto quiere decir que todos los animales se encuentran rotando en los diferentes potreros establecidos dentro de las haciendas; dividiéndose a los animales en grupos como son el rejo (animales en producción), el seco (animales que no se encuentran produciendo), y terneras (animales recién nacidos).

La única diferencia de manejo entre las haciendas estudiadas, es la del volumen o carga animal presente en cada una de ellas, es así que en la hacienda "Aychapicho" la elevada cantidad de animales permite la división del ganado seco en dos grupos para facilitar de esta manera su manejo.

### **3.8 Toma de muestras**

La toma de muestras se realizó en las mangas de manejo bovino de cada una de las haciendas, para evitar posibles percances con los bovinos estudiados; las muestras fueron tomadas en horas posteriores al ordeño en la mañana y en la tarde.

Las muestras se recolectaron en tubos VACUTAINER® a través del método de punción de la vena caudal, tomando cantidades no menores a 2 ml de sangre en tubos tapa roja (sin anticoagulante), ya que fue necesario obtener como mínimo 60 µl de suero sanguíneo para realizar las diferentes pruebas inmuno-diagnósticas.

Las muestras fueron almacenadas en cajas térmicas a 15°C y posteriormente transportadas al laboratorio de inmuno-diagnóstico del CIZ, en donde fueron centrifugadas a 4980.69 x g (fuerza centrífuga relativa expresada en g) durante 5 minutos para obtener el suero de cada muestra. Los sueros sanguíneos así obtenidos fueron almacenados a 4° C hasta su posterior análisis a través de la aplicación de las pruebas inmuno-diagnósticas.

### **3.8.1 Materiales de campo**

- Tubos VACUTAINER® sin anticoagulante (tapa roja) de 10 ml.
- Agujas VACUETTE® 21g x 1”.
- Porta agujas VACUETTE® (capuchón).
- Agujas 18g x 1”.
- Jeringas de 10 ml.
- Guantes de látex para manejo.
- Mascarillas desechables.
- Caja térmica para transporte de muestras.
- Bolsas de basura color rojo.
- Contenedor de material corto-punzante de desecho.
- Overol.
- Botas de caucho.
- Gorra.



### **3.9 Técnicas e instrumentos analíticos.**

#### **3.9.1 Prueba “Rosa de Bengala”.**

##### **3.9.1.1 Reactivos.**

- Bengatest® (Synbiotics Código # ABGT); suspensión concentrada de *Brucella abortus* cepa 19 de *Weybridge*, inactivada por calor y fenol al 5%, dispersa en tampón ácido y coloreada con Rosa de Bengala.
  
- Sueros controles.

##### **3.9.1.2 Materiales.**

- Placas alveoladas de vidrio (VWR, hech 2418).
- Pipeta automática Eppendorf®, calibrada a 30 µl.
- Cuentagotas, calibrado a 30 µl.
- Cronómetro (Hanhart).
- Lupa (10x).
- Vortex (Heidolph, REAX top).
- Agitador automático (VRN-200).
- Peines plásticos desechables.

##### **3.9.1.3 Procedimiento.**

- Los sueros controles negativo y positivo, así como los sueros a investigar y el antígeno (Bengatest®), fueron mantenidos a temperatura ambiente entre 50 y 60 minutos antes de efectuar la prueba.
  
- Se identificaron los sueros a investigar y se siguió el protocolo de la hoja de trabajo (Anexo N°1).
  
- Con una pipeta Eppendorf®, se depositaron sobre la placa 30 µl de suero a investigar previamente homogenizado.

- Se colocaron 30  $\mu$ l de suero control positivo, suero control negativo, en cada sitio siguiendo la hoja de trabajo diario.
- Una gota (30  $\mu$ l) de antígeno, fue depositado junto a cada gota de suero.
- Se mezclaron el antígeno y el suero, utilizando para cada muestra, el extremo de un peine plástico, y durante 4 minutos se lo dejó sobre el agitador automático con un movimiento rotatorio en sentido horario.
- Transcurridos los 4 minutos, se procedió a realizar la lectura, la observación de la aglutinación, se efectuó con la ayuda un lente de aumento.

#### 3.9.1.4 Interpretación de resultados.

Los diferentes grados de aglutinación fueron determinados según los siguientes criterios: el criterio de negatividad (ausencia de anticuerpos), o de positividad (presencia de anticuerpos), estuvo determinado por la ausencia o presencia de diferentes grados de aglutinación como se muestra en el siguiente cuadro.

**Tabla 3.1 Interpretación para el grado de aglutinación en la prueba Rosa de Bengala.**

<b>INTERPRETACIÓN</b>	<b>GRADO DE AGLUTINACIÓN</b>
(-)	Sin aglutinación, ni formación de un borde color rosa.
(+)	Presencia de aglutinación fina, y formación de un borde rosado.
(++)	Aglutinación fina y formación de un borde marcado
(+++)	Aglutinación gruesa, y formación de un borde definido.
(++++)	Aglutinación gruesa, formación de un borde definido y aclaración de la muestra.

**Fuente. Ron Román (2003).**

### 3.9.2 Prueba de Wrigth, sero-aglutinación en tubo (SAT).

#### 3.9.2.1 Reactivos.

- Antígeno para sero-aglutinación en tubo, suspensión concentrada de *Brucella abortus* (cepa 119/3), inactivada por calor y fenol al 5% y dispersa en tampón fenolado al 0.5%.

#### 3.9.2.2 Soluciones

- Solución salina fenolada (Tampón SAT-EDTA).
  - Cloruro de sodio  
0.85% (w/v)
  - Fenol  
0.5% (w/v)
  - EDTA  
5 mM
  - Agua destilada  
ajusta a 1 litro

El pH de esta solución fue ajustado a  $7.2 \pm 0.1$ , con una solución de NaOH 1M.

- Solución de antígeno.
  - Antígeno  
62.9 ml
  - Tampón SAT-EDTA  
487.1 ml

En esta solución el antígeno alcanzó una dilución de 1/8.75 y fue conservada entre 4°C y 8°C; posee una estabilidad de máximo 90 días.

#### 3.9.2.3 Materiales.

- Placas de microtitulación, con fondo cónico "U".
- Pipeta multicanal Transferpette® 20-200 µl.
- Pipeta Eppendorf®, calibrada a 32 µl.

- Sistema de espejo de aumento para la lectura de placas.

#### **3.9.2.4 Procedimiento.**

Un sistema de diluciones de los sueros a investigar así como de los sueros controles fueron efectuados sobre la microplaca de titulación, de la siguiente manera:

- En las primeras cúpulas se colocó 168  $\mu$ l de tampón SAT-EDTA, y en las otras dos cúpulas se colocó 100  $\mu$ l del tampón (prueba de rutina).
- A las primeras cúpulas se añadió 32 $\mu$ l del suero a investigar y se homogenizó todo el contenido, obteniendo una dilución de 1/12.5.
- Una vez homogenizado, se tomó 100  $\mu$ l del contenido de las primeras cúpulas y se colocó en las cúpulas siguientes, se homogenizó y se obtuvo una dilución 1/25 (Anexo 3).
- De igual manera se toma 100  $\mu$ l del contenido de las cúpulas número dos y se colocó en las cúpulas número tres, se homogenizó y se obtuvo una dilución final de 1/50.
- Para realizar la prueba complementaria de titulación de SAT-EDTA, las diluciones continuaron hasta las cúpulas número 12 obteniendo de este modo una dilución final de 1/25.600.
- Posteriormente se colocó 100  $\mu$ l de la solución de antígeno en cada cúpula, y se dejaron reposar antes de incubarlas.
- Las placas se incubaron durante 20 horas a 37° C en ambiente húmedo.
- Para evitar confusiones el protocolo de las diluciones se sigue de acuerdo a la hoja de trabajo para esta prueba.

### 3.9.2.5 Lectura de placas e interpretación de resultados

La lectura de las placas se realizó con la ayuda de un dispositivo de fondo oscuro provisto por el espejo de aumento iluminado con luz artificial directa.

- Resultados negativos: cuando el antígeno forma en el centro de la cúpula, un punto compacto, con un borde neto.
- Resultado positivo: cuando se forma una fina capa de sedimento, repartido uniformemente sobre todo el fondo de la cúpula, o cuando existe la formación de una gran zona de sedimentación, rodeada por un espacio de líquido completamente transparente.
- Los diferentes porcentajes de aglutinación fueron determinados en comparación con diluciones controles del antígeno, con porcentajes de aglutinación de entre 0, 25, 50 y 75%. Los resultados fueron expresados en Unidades Internacionales de aglutinación (UI), en base a la tabla 3.2

**Tabla 3.2 Relación entre el grado de translucidez y unidades internacionales de Aglutinación (UI) para la prueba SAT-EDTA.**

DILUCIÓN DEL SUERO	PORCENTAJE DE TRANSLUCIDEZ DE LA MUESTRA		
	25%	50%	75%
1/12.5	15 UI	20 UI	25 UI
<b>1/25</b>	<b>30 UI</b>	40 UI	50 UI
1/50	60 UI	80 UI	100 UI
1/100	120 UI	160 UI	200 UI
1/200	240 UI	320 UI	400 UI
1/400	480 UI	640 UI	800 UI
1/800	960 UI	1280 UI	1600 UI
1/1600	1920 UI	2560 UI	3200 UI
1/3200	3840 UI	5120 UI	6400 UI
1/6400	7680 UI	10240 UI	12800 UI
1/12800	15360 UI	20480 UI	25600 UI
1/25600	30720 UI	40960 UI	51200 UI

**UI: Unidades Internacionales de aglutinación**

**Fuente. Ron Román (2003).**

### 3.10 Análisis estadístico.

La prevalencia aparente fue calculada en base a los resultados de las pruebas diagnósticas (RB y SAT-EDTA), con un intervalo de confianza (I.C.) al 95% en base a la distribución normal del estimador (Anexo 5). El análisis (Tablas 3.3, 3.4, 3.5) de contingencia de las características de los casos positivos frente a los no positivos fueron comparados con la prueba Chi-cuadrado de asociación para dos variables (Chi-cuadrado de Pearson, prueba exacta de Fisher) y para las variables nominales se utilizaron análisis de correspondencia por medio de tablas de contingencia (Weimer, 2004).

**Tabla 3.3 Análisis de contingencia hacienda El Prado.**

<b>Año</b>	<b>Variable</b>	<b>Unidades de estudio</b>	<b>Intervalo de confianza</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>Incidencia</b>
2007	Positivos vs Negativos	6 de 175	0.01401319 0.07653022	0.03428571	-
2010	Positivos vs Negativos	4 de 148	0.008692980 .07206803	0.02702703	-
2010	Positivos vs Negativos	2 de 71	0.004894096 0.107159751	-	0.02816901

**Fuente.** Investigación directa.  
**Elaboración.** El Autor.

**Tabla 3.4 Análisis de contingencia hacienda Aychapicho.**

<b>Año</b>	<b>Variable</b>	<b>Unidades de estudio</b>	<b>Intervalo de confianza</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>Incidencia</b>
2007	Positivos vs Negativos	110 de 441	0.2102669 0.2930477	0.2494331	-
2010	Positivos vs Negativos	24 de 434	0.03650352 0.08230834	0.05529954	-
2010	Positivos vs Negativos	8 de 131	0.02867362 0.12066590	-	0.0610687

**Fuente.** Investigación directa.  
**Elaboración.** El Autor.

**Tabla 3.5 Análisis de contingencia para las haciendas El Prado y Aychapicho.**

<b>Año</b>	<b>Variable</b>	<b>Unidades de estudio</b>	<b>Intervalo de confianza</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>Incidencia</b>
2007	Positivos vs Negativos	116 de 616	0.1586487 0.2219391	0.1883117	-
2010	Positivos vs Negativos	28 de 582	0.03278386 0.06965002	0.04810997	-
2010	Positivos vs Negativos	10 de 202	0.02535238 0.09179834	-	0.04950495

Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El Autor.

La incidencia de la brucelosis bovina, fue calculada en base a los resultados negativos obtenidos en las dos haciendas para el año 2007, en contraste con los resultados obtenidos sobre los mismos animales, y utilizando las mismas pruebas diagnósticas, para el año 2010.

Adicionalmente se realizó una comparación de proporciones con las prevalencias obtenidas en investigaciones anteriores, utilizando prueba de comparación de dos proporciones independientes, para establecer si son o no significativas, tomando en cuenta que en cada zona el sistema de manejo del ganado es diferente (Dawson-Saunders & Trapp, 1993).

Para la determinación de los posibles factores de riesgo asociados en la introducción y o mantenimiento de la brucelosis en las haciendas en estudio, se aplicó una encuesta epidemiológica (ver Anexo 6). Debido al bajo número de observaciones realizadas en el estudio (dos haciendas), no se realizó la determinación de los factores de riesgo en base a un análisis estadístico, sino más bien en base a la observación y análisis de las respuestas reportadas en la encuesta.

## CAPÍTULO IV

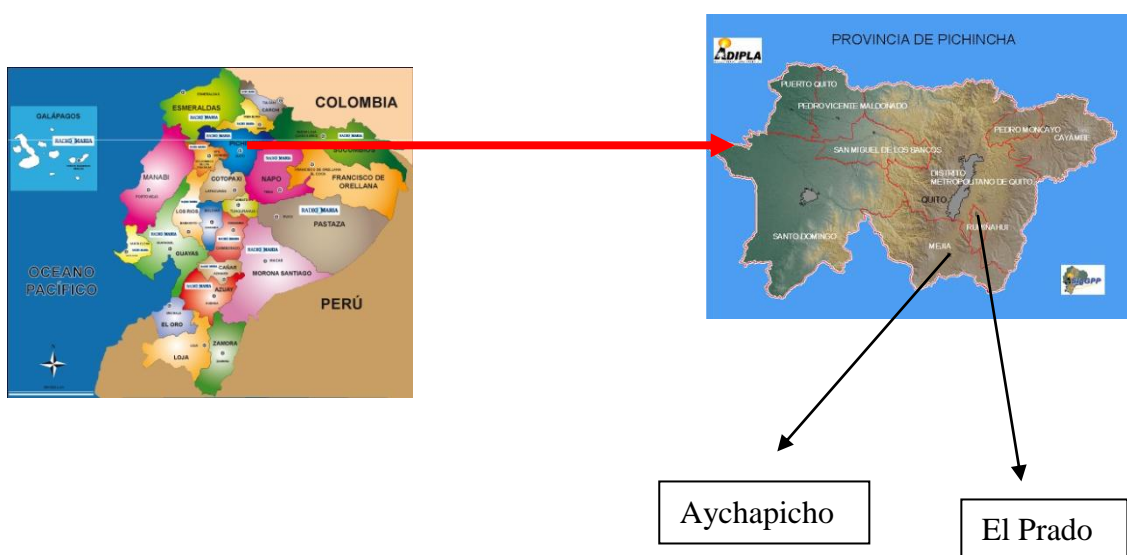
### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

#### 4.1 Análisis descriptivo.

El trabajo se realizó en las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” de la provincia de Pichincha, ubicadas en los cantones Rumiñahui y Mejía respectivamente.

De estas haciendas se obtuvieron un total de muestras de  $n = 582$ .

Mapa 1. Zona de muestreo.



Elaboración. El Autor.

#### 4.1.1 Distribución de la muestra.

De los 582 animales muestreados, la edad promedio fue de 93 meses (7.75 años), con una edad mínima de 18 meses y una máxima de 168 meses (14 años).

Para la hacienda “Aychapicho” donde se tomó 434 muestras la edad promedio entre los animales fue de 69 meses (5.75 años) con una edad mínima de 18 meses y una máxima de 120 (10 años).



En el caso de la hacienda “El Prado”, fueron tomadas 148 muestras con una edad promedio de 93 meses (7.75 años) y una edad mínima de 18 meses y una máxima de 168 (14 años).

#### 4.1.2 Distribución de la muestra en las haciendas de estudio.

En la investigación realizada el año 2007 en la cual se trabajó con 616 muestras animales de las cuales pertenecen a la hacienda “Aychapicho” 441 muestras y a la hacienda “El Prado” 175 muestras, las cuales representan el 71,59% y el 28,4% respectivamente (Tabla 4.1).

**Tabla 4.1. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2007.**

<b>HACIENDA</b>	<b>ANIMALES</b>	<b>%</b>
El Prado	175	28,41%
Aychapicho	441	71,59%
<b>TOTAL</b>	<b>616</b>	<b>100 %</b>

Fuente. CIZ, 2007.

Elaboración. El autor.

Para el año 2010, en la hacienda “Aychapicho” se trabajó con 434 animales que representan el 74,57% del número total de animales muestreados en el estudio; en tanto que en la hacienda “El Prado” se tomaron 148 bovinos, siendo estos el 25.43%. (Tabla4.2).

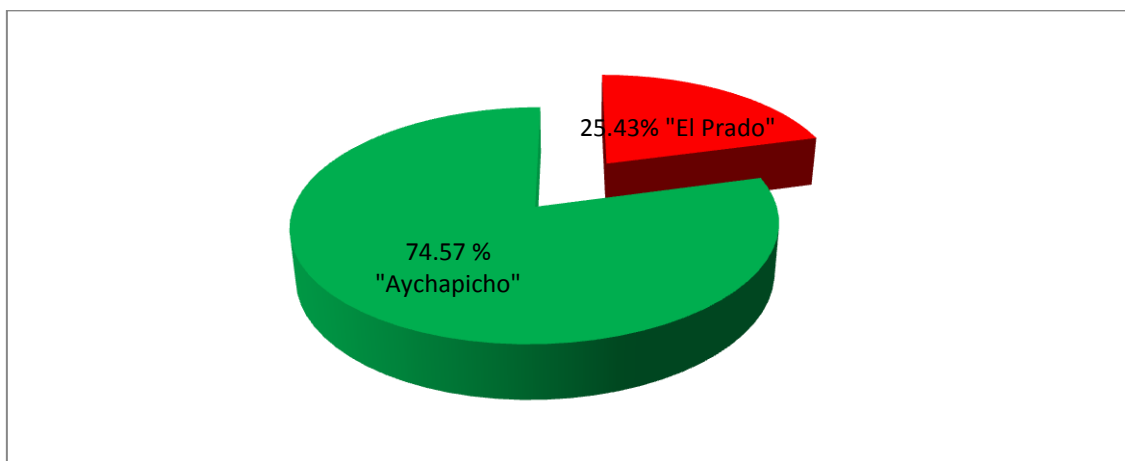
**Tabla 4.2. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2010.**

<b>HACIENDA</b>	<b>ANIMALES</b>	<b>%</b>
El Prado	148	25.43%
Aychapicho	434	74.57 %
<b>TOTAL</b>	<b>582</b>	<b>100 %</b>

Fuente. Investigación directa.

Elaboración. El autor.

**Figura 4.1. Distribución en porcentaje de la muestra de estudio realizado el 2010.**



Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.

## **4.2 Interpretación de resultados.**

### **4.2.1 Resultados de laboratorio.**

Todas las muestras recolectadas para este estudio (n=582) fueron procesadas por los métodos diagnósticos: Rosa de Bengala (RB) y Sero-aglutinación en tubo en presencia de EDTA (SAT-EDTA), en el período de noviembre 2010 a marzo 2011.

En total, se encontraron 28 (Tabla 4.3) casos positivos según el siguiente criterio: una muestra fue considerada positiva cuando en los resultados de por lo menos una de las pruebas se obtuvo positivos, descartando a los animales que fueron vacunados después de los 8 meses de vida con cepa 19, evitando así que puedan existir falsos positivos en el trabajo (Anexo 5).

Los resultados de las pruebas para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, se presentan en las tablas 4.3, 4.4 y 4.5, y están divididos en base al lugar de muestreo.

**Tabla 4.3 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en las haciendas El Prado y Aychapicho, durante el 2010.**

	Rosa de Bengala	SAT-EDTA	Total
	-	+	22
	+	+	2
	+	-	4
<b>Total</b>			<b>28</b>

**SAT-EDTA: Sero-aglutinacion lenta en tubo con EDTA.**

**Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.**

**Tabla 4.4 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en la hacienda El Prado, durante el 2010.**

	Rosa de Bengala	SAT	Total
	-	+	4
	+	-	0
<b>Total</b>			<b>4</b>

**SAT-EDTA: Sero-aglutinacion lenta en tubo con EDTA.**

**Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.**

**Tabla 4.5 Resultados de las pruebas diagnósticas para brucelosis, realizadas en la hacienda Aychapicho, durante el 2010.**

	Rosa de Bengala	SAT	Total
	-	+	18
	+	+	2
	+	-	4
<b>Total</b>			<b>24</b>

**SAT-EDTA: Sero-aglutinacion lenta en tubo con EDTA.**

**Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.**

## **4.2.2 Cálculo de la sero-prevalencia.**

### **4.2.2.1 Muestreo realizado en el 2007 (información recopilada por el CIZ).**

Al término (2007) de una serie de investigaciones realizadas por el CIZ, en las haciendas objeto de investigación, se determinó que la sero-prevalencia de la brucelosis en la hacienda “El Prado” era de 3.42% (6/175) con un intervalo de

confianza al 95% de [1,4% - 7,6%], en tanto que en “Aychapicho” el valor fue de 24.94% (110/ 441) con un intervalo de confianza al 95% [21,02% - 29,3%].

La sero-prevalencia general (dos haciendas) fue de 18.83% (116/616) con un intervalo de confianza al 95% [15,8% - 22,1%], ver tabla 4.6.

**Tabla 4.6 Sero-prevalencia por haciendas para el año 2007.**

<b>Hacienda</b>	<b>Nº total de muestras</b>	<b>Nº de casos positivos</b>	<b>Sero-prevalencia</b>
Aychapicho	441	110	24.94%
El Prado	175	6	3.42%
<b>Total</b>	<b>616</b>	<b>116</b>	<b>18.83%</b>

Fuente. CIZ (2007).  
Elaboración. El autor.

#### **4.2.2.2 Muestreo realizado en el 2010. durante el transcurso de la presente investigación).**

La presente investigación permitió determinar una sero-prevalencia general (dos haciendas) de 4,81% (28/582) con un intervalo de confianza al 95% [3.2% - 6.9%]. Constatándose que en la hacienda “El Prado” la sero-prevalencia fue de 2.70% (4/148) con un intervalo de confianza al 95% [0,8% - 7,2%], en tanto que en “Aychapicho” la sero-prevalencia es del 5.53% (22/434) con un intervalo de confianza al 95% [3,6% - 8,2%], ver tabla 4.7.

**Tabla 4.7 Sero-prevalencia por haciendas para el año 2010.**

<b>Hacienda</b>	<b>Nº total de muestras</b>	<b>Nº de casos positivos</b>	<b>Sero-prevalencia</b>
Aychapicho	434	24	5.53%
El Prado	148	4	2.70%
<b>Total</b>	<b>582</b>	<b>28</b>	<b>4,81%</b>

Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.

### 4.2.3 Cálculo de la incidencia.

La incidencia, número de nuevos casos, fue determinado en base a los resultados obtenidos de la investigación previa realizada por el CIZ, durante el 2007 en las dos haciendas intervenidas. Al comparara las dos bases de datos, a) animales negativos durante el 2007 (n=202), 71 y 131 en las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” respectivamente y b) animales positivos durante el 2010, se constató la presencia de nuevos casos positivos (n=10) lo cual representa una incidencia de 4.95% con un intervalo de confianza al 95% de 2.53 – 9.17%.

En la hacienda “El Prado”, donde el número total de muestras (originalmente negativas – 2007) fue n=71, la incidencia fue del 2.81% con un intervalo de confianza al 95% de 0.4 – 10.72%.

En la hacienda “Aychapicho”, donde el número total de muestras (originalmente negativas – 2007) fue n=131 la incidencia fue del 6.11% con un intervalo de confianza al 95% de 2.87 – 12.1%.

En la tabla 4.8, se presenta la información detallada de cada una de las haciendas intervenidas.

Tabla 4.8 Incidencia por haciendas para el año 2010.

Hacienda	Animales con segunda muestra	Nº de nuevos casos	Incidencia
Aychapicho	131	8	6.11%
El Prado	71	2	2.81%
<b>Total</b>	202	10	4.95%

Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.

### 4.2.4 Análisis de asociación de los factores de riesgo.

Mediante la aplicación de una encuesta epidemiológica (Anexo 6) se pudo evidenciar como factores de riesgo los siguientes:

#### **4.2.4.1 Identificación y localización de las explotaciones.**

Hacienda “Aychapicho” de propiedad de Holding DINE ubicada en el cantón Mejía, Provincia de Pichincha a 0°27'21.84”S 78°34'02.76”O con una elevación de 2846msm, situada en la región uno (de alta prevalencia de brucelosis) según (MAGAP-Agrocalidad 2009).

Hacienda “El Prado” perteneciente a la Escuela Politécnica del Ejército Facultad de Ciencias Agropecuarias IASA ubicada en el cantón Rumiñahui de la Provincia de Pichincha a 0°23'06.92”S 78°24'57.20”O con una elevación de 2716 msm situada en la región uno (de alta prevalencia de brucelosis) según (MAGAP-Agrocalidad 2009).

#### **4.2.4.2 Datos generales de las explotaciones.**

##### **Hacienda “Aychapicho”.**

La hacienda Aychapicho, está constituida por una superficie total de 680 hectáreas (ha), de las cuales 150 ha están destinadas a pastos; esta hacienda es propiedad del Estado ecuatoriano, y realiza la explotación de las siguientes especies animales: bovinos, equinos, ovinos, mulares.

Esta hacienda lleva tres años en el proceso de obtención del certificado de predio libre de brucelosis.

Los animales de reemplazo provienen primordialmente de la misma hacienda, aunque en algunos casos los reemplazos proceden de otras unidades de producción pertenecientes a Holding DINE. Los animales que ingresan no poseen certificación sanitaria, ni son colocados en una zona destinada a cuarentena previo el ingreso al rebaño.

El destino final del estiércol son los pastos, a través de la dispersión mecánica del mismo. La hacienda, cuenta con un moderno sistema de ordeño tipo

“espina de pescado”. La aplicación de la encuesta epidemiológica reveló también que los animales de descarte, son comercializados inmediatamente.

En cuanto a las protecciones física y límites exteriores de la propiedad, la hacienda posee mayoritariamente un cercado por alambre de púas, así como en pocos tramos una cerca eléctrica; la visita y observación de la hacienda en estudio, permitió constatar el mal estado de los soportes de la cerca, que en la gran mayoría son de madera.

Si bien es cierto la entrada de vehículos y personas ajenas a la propiedad, está restringida, no se evidenció la utilización de pediluvios para vehículos o personas.

#### **Hacienda “El Prado”.**

La hacienda El Prado, que posee una superficie de 150 ha, es propiedad del Estado ecuatoriano, y tiene una explotación bovina de leche, constatándose la presencia de otras especies animales como: equinos, ovinos, camélidos sudamericanos, aves, cerdos, cobayos, lagomorfos y perros.

La hacienda El Prado no posee certificación de predio libre de brucelosis, observándose que los animales de reemplazo provienen de la misma hacienda.

El destino final de estiércol son los pastos, a través de la dispersión mecánica del mismo, poseen un moderno sistema de ordeño tipo “espina de pescado”.

A diferencia de la hacienda Aychapicho, en esta hacienda los animales de descarte no son comercializados inmediatamente por la dependencia burocrática que posee para con la Escuela Politécnica del Ejercito (ESPE).

En cuanto a las protecciones física y límites exteriores de la propiedad, la hacienda posee mayoritariamente un cercado por alambre de púas, el uso de cerca eléctrica tanto fija como móvil está presente en todos los potreros.

Si bien es cierto la entrada de vehículos y personas ajenas a la propiedad, está restringida, no se evidenció la utilización de pediluvios para vehículos o personas.

#### **4.2.4.3 Sistema de reproducción.**

##### **Hacienda “Aychapicho”.**

El sistema de reproducción utilizado es el de inseminación artificial, y las hembras preñadas a punto de parición son trasladadas a una zona segura para su parto.

##### **Hacienda “El Prado”.**

El sistema de reproducción utilizado es el de inseminación artificial, procurando sincronizar los partos y las hembras preñadas a punto de parición son trasladadas a una zona segura para su parto.

#### **4.2.4.4 Manejo de abortos.**

##### **Hacienda “Aychapicho”.**

Los abortos no son muy comunes, pero los loquios expulsados durante el parto en muchas ocasiones son consumidos por las propias hembras y los caninos que circundan libremente en la hacienda.

La hacienda, cuenta con el servicio profesional permanente de un médico veterinaria, encargado del seguimiento: sanitario, productivo y reproductivo de los animales de la propiedad.

El personal técnico de la hacienda, tiene un conocimiento básico de la brucelosis: causa, transmisión, prevención y control.

Son conocedores de las formas de transmisión de la brucelosis y poseen dos miembros de su personal que se infectaron de esta enfermedad, el médico



veterinario a cargo del área bovina y uno que para el año 2010 presentó una recaída, el trabajador encargado del sistema de ordeño.

#### **Hacienda “El Prado”.**

La encuesta epidemiológica, reveló que no se presentan abortos con elevada frecuencia, observándose que el producto de los mismos, así como las secundinas de los partos, son generalmente incineradas o enterradas.

La hacienda, cuenta con el contingente profesional permanente de un médico veterinario y un ingeniero zootecnista, los cuales están encargados del seguimiento: productivo, reproductivo y sanitario de los animales de la propiedad.

La encuesta reveló que los profesionales y técnicos encargados del manejo de los bovinos, tienen un pleno conocimiento de la brucelosis en cuanto a su: origen, transmisión, prevención, control y diagnóstico.

#### **4.2.4.5 Diagnóstico de brucelosis del año 2010.**

##### **Hacienda “Aychapicho”.**

Puesto que se encuentran realizando el seguimiento para la obtención del certificado de predio libre de brucelosis, los análisis realizados por parte del MAGAP, se realizan de forma anual.

Los animales infectados son dados descartados inmediatamente, esto consiste en su comercialización ya sea directamente en el camal donde el costo por libra en pie se encuentra en 65 centavos de dólar, comercialización en el mercado de Machachi los valores de la carne están se determinan el momento de la venta o muerte inmediata, la decisión que se tome depende del encargado de la matriz (DINE-agros).

### Hacienda “El Prado”.

Los controles y evaluaciones de la enfermedad dentro de esta hacienda son continuos, se los realiza de forma inmediata a los animales que presenten abortos, retención de placenta y producción de crías débiles (síntomas de brucelosis), en cuanto a realizar evaluaciones a todos los bovinos, estas se las realiza cada 6 meses con la prueba Rosa de Bengala.

Los animales infectados son descartados a medida que la Escuela Politécnica del Ejército lo permite.

#### 4.2.4.6 Vacunación.

### Hacienda “Aychapicho”.

La vacunación es realizada por el médico veterinario de planta con ayuda del mayordomo, se utiliza un protocolo de vacunación con cepa 19 entre el 3 y 8 mes de vida del animal y 4 años posteriores a esta vacunación se revacuna de manera anual con RB51, hasta el fin de la vida útil del animal.

La tabla N° 4.9, presenta la dosificación y vías de administración de las vacunas contra brucelosis.

**Tabla 4.9 Manejo de vacunas en la hacienda Aychapicho.**

Casa comercial		Dosis	Vía de administración
<b>Cepa 19</b>	Life (antibang)	6 ml ( $6 \times 10^{10}$ gérmenes vivos)	Subcutánea
<b>RB-51</b>	Schering-plough	2ml ( $1 \times 10^9$ CFU)	Subcutánea

**CFU: Unidades formadoras de colonias.**

**Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.**

### Hacienda “El Prado”.

Dentro de esta hacienda, los calendarios de vacunación son llevados y realizados por el médico veterinario, se vacuna con cepa 19 a terneras de edades entre 3 y 6 meses y anualmente se revacuna con RB51.

La tabla N° 4.10, presenta la dosificación y vías de administración de las vacunas contra brucelosis.

**Tabla 4.10 Manejo de vacunas en la hacienda El Prado.**

Casa comercial		Dosis	Vía de administración
<b>Cepa 19</b>	Life (antibang)	6 ml ( $6 \times 10^{10}$ gérmenes vivos)	Subcutánea
<b>RB-51</b>	Schering-plough	2ml ( $1 \times 10^9$ CFU)	Subcutánea

CFU: Unidades formadoras de colonias.

Fuente. Investigación directa.  
Elaboración. El autor.

#### 4.2.4.7 Manejo de heces.

##### Hacienda “Aychapicho”.

En esta hacienda cuentan con maquinaria agrícola, la cual se encarga de la dispersión de heces dentro de los potreros, pero no se evidenció un manejo de las heces que los animales dejan en el ordeño, colocando estas en una canal que las lleva a una acequia.

##### Hacienda “El Prado”.

Esta hacienda es poseedora de maquinaria agrícola y realiza la dispersión de heces a nivel de potreros, las heces recogidas en el ordeño son enviadas a un sistema de lombricultura para la producción de humus.

#### 4.2.4.8 Factores de Riesgo.

En base a la información recopilada en la encuesta epidemiológica, podemos mencionar que como parte de los factores de riesgo en el contagio de los rebaños se podrían encontrar:

### Presencia de otras especies animales.

La encuesta permitió constatar la presencia de otras especies animales dentro de las haciendas investigadas, los cuales podrían constituirse en reservorios y vectores mecánicos de la enfermedad.

La tabla N° 4.11, presenta el inventario de las otras especies animales, presentes en las haciendas.

**Tabla 4.11 Inventario animal de las haciendas El Prado y Aychapicho.**

**Bovinos Equinos Ovinos Caprinos Camélidos Porcinos Lagomorfos  
y cobayos**

<b>El Prado</b>	202	4	150	-	20	38	56
<b>Aychapicho</b>	630	22	90	50	-	50	-

**Fuente. Investigación directa.**

**Elaboración. El autor.**

### Introducción de animales de remplazo.

La adquisición de bovinos e introducción de los mismos por parte de las haciendas en estudio, se lo realiza sin asegurar su buen estado de salud (sin certificados sanitarios) ni tampoco son sometidos a un período de cuarentena que minimice la posible diseminación de enfermedades en el hato.

### Presencia y destino de los abortos en las haciendas estudiadas.

La encuesta permitió demostrar la presencia de abortos en las dos haciendas intervenidas, evidenciándose que los mismos en su gran mayoría no son manejados adecuadamente, hecho que puede constituirse en una posible fuente de las bacterias causantes de esta zoonosis.

**Recolección y destino del estiércol bovino.**

Si bien es cierto la limpieza de establos y lugares en los cuales se realiza el manejo de los bovinos, se la realiza todos los días, se pudo notar que las heces recolectadas de los bovinos, las cuales pueden ser fuente de contaminación de la enfermedad, no siguen ningún tratamiento previo su traslado y dispersión en los pastos.

## CAPÍTULO V

### 5. Discusión

#### 5.1 Análisis general

A pesar de la implementación de programas de control y erradicación en diversos países, la brucelosis sigue siendo una de las infecciones con mayor distribución a nivel mundial (Álvarez, 2001). La importancia de esta enfermedad, radica no solo en las grandes pérdidas económicas en la industria pecuaria sino y principalmente por sus implicaciones en la Salud Pública (Mariño O, s.f).

La presente investigación se realizó con la finalidad de determinar los factores de riesgo involucrados en la introducción y mantenimiento de la brucelosis en dos fincas (“Aychapicho” y “El Prado”), así como la prevalencia e incidencia de esta enfermedad en el ganado bovino.

El presente estudio fue realizado en dos haciendas, localizadas dentro de la provincia de Pichincha, la cual según lo reportado por AGROCALIDAD del MAGAP, está incluida en la zona 1 o de alta prevalencia (1,97% a 10,62%) de brucelosis bovina en Ecuador (PNSA-MAG, 1979, citado en MAGAP-Agrocalidad 2009).

Gracias a que el Centro Internacional de Zoonosis (CIZ) de la Universidad Central del Ecuador (UCE), ha venido trabajando de forma sostenida y continua en la investigación y control de esta infección en algunas regiones del país, se pudo disponer de información previa de la región (Pichincha), así como de las haciendas intervenidas.

Esta investigación se desarrolló con una muestra de 582 animales. En primer lugar, se procedió al diagnóstico de brucelosis por medio de dos métodos serológicos de laboratorio, Rosa de Bengala y Sero-Aglutinación en Tubo, y en segundo lugar estos resultados fueron adjuntados a una base de datos para el

análisis estadístico de la incidencia de esta enfermedad dentro de las haciendas estudiadas.

A sabiendas de esta realidad, en el Ecuador el Ministerio de Salud Pública en el transcurso del periodo 2008-2009, elimina esta enfermedad de la lista de enfermedades de notificación obligatoria (EPI-2) (Aguilar 2011 citado por Faz 2011), aunque esta enfermedad se encuentra difundida por todo el Ecuador.

Los resultados obtenidos en este trabajo para las haciendas intervenidas, evidencian la presencia de la enfermedad, siendo en la hacienda Aychapicho donde se estudiaron 434 animales donde más casos positivos se ha encontrado 24, lo cual nos arroja una prevalencia de 5,53% [3,6-8,2%] para el año 2010, desde luego si esta es comparada con la prevalencia del año 2007 año en el cual se estudiaron 441 animales de los cuales 110 resultaron positivos generando una prevalencia de 24,94% [21,2-29,3], esta ha disminuido considerablemente, pero si nos fijamos en el cálculo de la incidencia se puede evidenciar que 131 animales de los que fueron estudiados en el año 2007 y continúan existiendo dentro de la hacienda con 8 nuevos casos positivos arrojando de esta manera una incidencia de 6,11% [2,87-12,1], lo cual nos indica que la presencia de brucelosis dentro de la hacienda Aychapicho al cabo de tres años es considerablemente elevada.

En el caso de la hacienda el Prado en la cual se estudiaron 148 animales el resultado de casos positivos fue de 4, arrojándonos una prevalencia del 2,70% [6,8-7,2%] en el año 2010, comparándola con la prevalencia del año 2007 año en el cual se encontró en una muestra de 175 animales 6 positivos una prevalencia de 3,42 [1,4-7,6%], se puede evidenciar que no ha disminuido la presencia de la enfermedad, siendo así que en la incidencia podemos observar que 71 animales se encontraron en la investigación del año 2007 y 2010 pero de estos aparecen 2 nuevos casos de la enfermedad generando una incidencia del 2,81% [0,4-10,22], la cual no es del todo elevada pero si debe ser tomada muy en cuenta por motivos de salud animal.

En ambas haciendas estudiadas se demuestra que los diferentes sistemas de control no han sido del todo suficientes para apalejar la aparición de nuevos animales enfermos, peor aún erradicar esta enfermedad.

## **5.2 Discusiones de factores de riesgo en bovinos, sero-prevalencia e incidencia.**

Considerando el total de muestras del estudio (n = 582), la sero-prevalencia se encuentra el 4,81% con un intervalo de confianza al 95% [3.2% - 6.9%] y la incidencia estudiada en un grupo de (n=202) animales muestreados, que se encontraron presentes en la investigación realizada el año 2007 y aun estuvieron presentes en el año 2010, de los cuales se encuentran 10 nuevos casos se encuentra el 4.95% con un intervalo de confianza al 95% [2.53 – 9.17%].

Barton (2002), señala que al estar situada una hacienda próxima a un predio positivo, el riesgo de contagio es alto. Ya sea por contacto directo o indirecto entre rebaño sano e infectado, esto puede ocurrir por tener mal cercados los potreros, permitiendo el contacto de los animales.

La mayor parte de las formas de mastitis pueden propagarse durante el ordeño, la infección por *Brucella spp.* puede diseminarse a partir de una vaca cuya leche contiene el microorganismo si se pone en contacto con una vaca sana (Blood *et al*, 1987)

El mal manejo de productos abortados constituye otro factor de diseminación de la enfermedad ya sea inter o intra rebaño, puesto que se observó que en una de las haciendas estos no eran enterrados o quemados en todos los casos, facilitando el consumo de estos por parte de las hembras que son naturalmente atraídas por este tipo de materiales, y por parte de los perros que vienen a constituir un reservorio de *Brucella spp.*, como se ha evidenciado por los estudios realizados por el Centro Internacional de Zoonosis-CIZ.



La presencia de otras especies animales (equinos, ovinos, aves, camélidos sudamericanos) en las explotaciones, es un factor importante en la transmisión de la enfermedad (MERCK, 2004).

Así, en el estudio realizado se pudo constatar un mal manejo del estiércol, el cual se depositaba en los potreros y en otros casos en las vertientes de agua, cabe recalcar que dichas vertientes abastecen de agua a las haciendas aledañas del sector.

Se debe destacar que *Brucella spp*, puede sobrevivir entre 30-150 días en agua 8-240 días en heces fecales y estiércol utilizado como abono, sin previo tratamiento (Saegerman *et al*, 2007).

Por esta razón se debe manejar de manera adecuada el estiércol y evitar eliminarlo en la vertiente así como se debe evitar eliminar los desechos de abortos y/o partos en las fuentes hídricas.

La falta de una cuarentena en la cual se realicen pruebas diagnósticas a los animales ingresados (Blood *et al*, 1987), así como la prohibición en el ingreso de vectores mecánicos de la enfermedad ya sean otras especies animales, vehículos o el hombre (MERCK, 2004). Estas fallas fueron encontradas en ambas haciendas estudiadas.

Los animales positivos deberían ser marcados en el tren posterior y ser eliminados en un lapso de treinta días para así evitar la propagación de esta enfermedad.

### **5.3 Discusión de los resultados de laboratorio.**

La sensibilidad y especificidad de las pruebas juega un papel fundamental en el diagnóstico de la brucelosis bovina, así como el tipo de anticuerpos que detectan las diferentes pruebas, es por esto que en el presente estudio se combinaron pruebas diagnósticas que detectan diferentes inmunoglobulinas

con la finalidad de identificar animales en diferentes estados de inmunidad y así aumentar la sensibilidad y especificidad de las mismas, conjuntamente con una encuesta basada en la fecha de vacunación y revacunación (Anexo 6) de los animales, gracias a la cual se puede sesgar de mejor manera los casos falso positivo por agentes vacunales.

Los resultados que se obtienen con esta prueba Rosa de Bengala deben ser siempre confirmados por otras pruebas que detecten anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, particularmente en áreas donde la incidencia de brucelosis animal es alta, motivo por el cual se utilizó la prueba de sero-aglutinación en tubo (SAT) como prueba de referencia para la confirmación de brucelosis, puesto que es la prueba mejor sistematizada y de mayor uso.

Dentro de los resultados obtenidos, estos fueron anotados en las hojas de manejo de Rosa de Bengala y SAT (Anexo N° 1 y 2) de las cuales se obtuvo una base de datos con los animales positivos y negativos (Anexo N°5), a diferencia de Rosa de Bengala en la cual las reacciones se definen como positivas o negativas, en SAT estos títulos son expresados en unidades internacionales (UI) las cuales mediante un *cut off* estandarizado nos permiten evaluar el avance de una infección.

#### **5.4 Otras especies animales.**

La población canina es el principal vector animal gracias a la facilidad de movilidad e ingreso a los potreros que estos poseen y, al ser carnívoros y consumir de manera oportunista, las membranas y productos abortados. No podemos dejar de mencionar al resto de rebaños presentes en las haciendas que también tienen contacto con los bovinos y en determinados casos inclusive comparten el potrero.

Podemos mencionar también, que si bien la dispersión de heces dentro de los potreros es un método económico para el tratamiento de el excremento, no precisamente es el más adecuado cuando se cuenta con animales positivos a

brucelosis, dado que, siendo los potreros zonas en las cuales debe existir humedad relativa para el desarrollo óptimo de los pastos, esta humedad también proporciona un medio de conservación y supervivencia de *Brucella spp*, ya que tiene una supervivencia en suelos húmedos de 66 días y fríos de 151-185 días (Saegerman *et al.*2007 citado por Pontón & Ruiz 2008).

Lo mencionado se puede evidenciar también en el tratamiento de la heces provenientes de el sistema de ordeño ya que estas al ser enviadas a una asequia y esta comunicar a las diferentes haciendas circundantes, dicha asequia se transforma en un vector extra en propagación de la enfermedad.

Al no marcar a los animales positivos, ni enviarlos a una zona cuarentenal, apartándolos de esta manera de los animales sanos hasta su pronta eliminación, se promueve la propagación horizontal de la enfermedad puesto que estos animales estarán produciendo leche y son ordeñados en el mismo sistema y grupo que los animales sanos, los cuales se exponen al contagio vía pezoneras.

Cabe destacar que los animales infectados beben agua y *Brucella spp*, sobrevive 5-114 días en el agua de bebida (Saegerman *et al.*2007 citado por Pontón & Ruiz 2008), esto hace necesario evitar la contaminación de las fuentes y el agua utilizada en las prácticas ganaderas.

## CAPÍTULO VI

### 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

#### 6.1 Conclusiones.

- La determinación de la incidencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. en las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” de la provincia de Pichincha, sierra norte ecuatoriana, arrojó un porcentaje total alto; este dato nos indica que la brucelosis animal en el área estudiada es un problema de salud animal subestimado por los administradores de las haciendas y por los organismos de control, puesto que al cabo de tres años existe tal incidencia de *Brucella* spp en las haciendas estudiadas.

Se estimó que la incidencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. es diferente en cada hacienda intervenida. Encontrándose un mayor porcentaje para la hacienda “Aychapicho”, pese a que esta es la única hacienda donde los animales positivos fueron descartados.

- Los principales factores de riesgo involucrados en la introducción y mantenimiento de la brucelosis bovina en los hatos bovinos estudiados fueron: la introducción de animales sin previo paso por cuarentena, el mal manejo de los productos abortados, el tipo de ordeño, la falta de un sistema de vacunación constante y adecuado, el hecho de colindar con fincas positivas, la rotación constante de veterinarios.
- La elevada prevalencia encontrada en este estudio pone en evidencia el bajo control de la enfermedad, por ello es necesario comunicar los datos obtenidos en el presente estudio a los Organismos Nacionales de control para que tomen las medidas de prevención adecuadas y evitar de este modo la propagación y transmisión de brucelosis en el medio rural, principalmente en la sierra norte ecuatoriana, ya que inclusive según sus análisis es la zona del país con mayor desarrollo ganadero pero con elevada presencia de esta enfermedad, significando esto un problema

no solo de salud animal sino también de salud pública ya que las personas que habitan en aquellas zonas tienen alto riesgo de contraer la enfermedad.

## **6.2 Recomendaciones.**

- El estudio de la incidencia no solo de brucelosis sino también de otras enfermedades de carácter zoonótico en diferentes localidades dentro del territorio ecuatoriano permitirá contar con información adecuada y relevante para poder determinar un perfil cronológico de esta y otras enfermedades y así tener una fuente verás de investigación referente a los diferentes sistemas de control y erradicación de las enfermedades.
- Si bien este estudio aportó con datos concordantes con otras investigaciones, es imperiosa la necesidad de proyectar estudios epidemiológicos sobre brucelosis animal y humana a nivel nacional para identificar con exactitud las zonas endémicas y determinar la prevalencia e incidencia nacional de la enfermedad, para de esta manera desarrollar y ejecutar de mejor manera los diferentes programas de control y posible erradicación.
- Para mejorar la vigilancia epidemiológica de la brucelosis, es necesario implementar a nivel nacional una red de centros de diagnóstico con personal especializado capaz de identificar los casos de infección y el origen de la misma; a su vez estos centros pueden servir para dar charlas y capacitación a personas de zonas rurales y productivas, así de esta manera concientizar a los productores acerca de esta y otras zoonosis, disminuyendo el riesgo del factor ocupacional como principal modo de contagio en aquellas zonas.
- Se debería considerar prioritaria la puesta en marcha de sistemas de prevención de brucelosis animal que tome en cuenta programas adecuados de vacunación y control sanitario en el movimiento y

reposición del ganado dado que la única fuente de brucelosis humana como enfermedad zoonótica son los animales infectados.

- Se debe mantener en óptimo estado las cercas que colindan con otros predios y así poder evitar el contagio de animales ajenos a la hacienda.
- El control de la brucelosis requiere de medidas de bioseguridad adicionales como son el monitoreo serológico continuo, con la finalidad de identificar oportunamente animales que empiezan la enfermedad y evitar que contagien otros animales sanos al momento del parto o del aborto. Es importante además la segregación de animales enfermos hasta que terminen su ciclo productivo para su eliminación paulatina, ya que la presencia de animales seropositivos representa un factor de riesgo importante. Se debe realizar el diagnóstico de la brucelosis a los animales de reemplazo antes de introducirlos y la cuarentena de los mismos.
- Se debe implementar, para cada hacienda, un programa de vacunación adecuado a la realidad económica y productiva en cada una de las haciendas.
- A consideración del autor, es imprescindible poner en marcha programas de promoción de la salud animal y la utilización de protección laboral adecuada y material de bioseguridad con respecto al manejo de ganado para disminuir la incidencia de brucelosis y otras zoonosis en las zonas donde la producción pecuaria es un modo de subsistencia.
- Otra de las medidas adicionales a considerar es no alimentar a las crías con la leche de madres infectadas. El control de la enfermedad se reflejará directamente en la producción láctea de la explotación.

## BIBLIOGRAFÍA

### Información no publicada.

1. Centro Internacional de Zoonosis – CIZ, 2007. Investigación realizada en las haciendas “El Prado” y “Aychapicho” de los cantones Rumiñahui y Mejía de la provincia de Pichincha (datos no publicados).

### Internet.

1. Beef Montana Network. 2011.  
<http://www.mtbeefnetwork.org/brucellosis/bruccowsym.html>.
2. INEC. 2010 VI Censo de Población y V de Vivienda:  
[http://www.inec.gov.ec/web/guest/ecu\\_est/est\\_soc/cen\\_pob\\_viv](http://www.inec.gov.ec/web/guest/ecu_est/est_soc/cen_pob_viv)
3. MAGAP-AGROCALIDAD 2009. Programa Nacional de control de Brucelosis Bovina.  
[www.agrocalidad.gov.ec/agrocalidad/imagenes/Agrocalidad/contenido/SanidadAnimal/docs/programa\\_nacional\\_brucelosis\\_bovina.pdf](http://www.agrocalidad.gov.ec/agrocalidad/imagenes/Agrocalidad/contenido/SanidadAnimal/docs/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf)
4. National Library of Medicine. 2011.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
5. OIE. 1996-2004. Animal health in the World.  
"http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/el-sistema-mundial-de-informacion-sanitaria/datos-antes-2005-handistatus.
6. OIE. 2008. Porcine Brucellosis. OIE Terrestrial Manual 2008:  
[http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.08.05\\_PORCINE\\_BRUC.pdf](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.08.05_PORCINE_BRUC.pdf)
7. Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS). Brucellosis  
<http://www.paho.org/Project.asp?SEL=TP&LNG=SPA&ID=34>
8. SICA 2002. III Censo Nacional Agropecuario:  
<http://www.sica.gov.ec/censo/docs/nacionales.htm>

### Libros.

1. Acha & Szyfres. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Cuarta edición. Organización Mundial de la salud, pp. 28 – 56

2. Abadia G. & Picu C. 2005. Zoonoses d'origine professionnelle: Occupational zoonosis. EMC-Toxicologie Pathologie 2 pp.163 – 177.
3. Almaraz A. & Rodriguez A. 2001. Epidemiología Y Prevención De La Brucelosis. Brucelosis Como Enfermedad Profesional. In: Manual de Brucelosis, Rodríguez A., Orduña A., Ariza X., Moriyón I., Diaz I., Blasco J. Almaraz A., Martínez F., Ruiz C., Abad R., Consejería de Sanidad y Bienestar Social Dirección General de Salud Pública, Castilla y León, pp. 45 – 61.
4. Alton G., Angus R., Jones L., Verger J. 1988. Serological Methods. In: Techniques for the brucellosis laboratory. INRA. París, pp 63 – 131.
5. Bailey & Scott. 2004. Brucella. In: Diagnóstico Microbiológico. Undécima edición. Forbes B., Sahm D., Weissfeld A., Editorial Panamericana, Argentina, pp 507 – 510.
6. Baldwin C.I., Goenka R. 2004. Host Cellular immune responses against Brucella spp. Evalued using the mouse model. IN. Molecular and celular biology of Brucella.(I. Moriyon and I. Lopez Goni. Eds).Horizon Scientific press, Norkfolk, UK, pp 341-367.
7. Barton C. 2002. Principios de Inmunología y Serología de Brucelosis. *Principios de inmunología*. pp 10 - 17
8. Blood D.C., Henderson J.A., & Radistits O.M. 1987. Medicina Veterinaria. *Brucellosis causada por Brucella abortus*. 5ed.Mexico DF., pp 523 – 560.
9. Bradford Smith P. 2010. Medicina Interna de Grandes Animales. Cuarta edicion. Elsevier Mosby. School of veterinary medicine, University of California. Pp. 1461 – 1610.
10. Castro H., González S., Prat M. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 39 (2): 16-203.
11. Carmichael H., Barr B, Anderson M, 1996. Las enfermedades infecciosas causan aborto bovino y la pérdida fetal. *Vet Clin North Am. Alimentos Anim Pract* 9, 343 - 368.
12. Cloeckert A, Tibor A, Zygmunt M., 1999. Brucella outer membrane lipoproteins share antigenic determinants with bacteria of the family Rhizobiaceae. *Clin Diagn Lab Immunol*; 6(4):9-627.
13. Cloeckert A, Vizcaino N, Paquet J, Bowden R, Elzer P. 2002. Major outer membrane proteins of Brucella spp.: past, present and future. *Vet Microbiol*; 90(1-4): 47-229.



14. Dawson-Saunders, Beth ; Trapp, Robert G. 1993. Bioestadística Medica, México, D.F. MANUAL MODERNO , MEXICO.,pp280-295.
15. Díaz R., Leiva J., Rubio M. & Dorronsoro I. 2001. Diagnóstico de la brucelosis humana, In: Diagnóstico de Brucelosis Animal. Díaz E., Hernandez L., Valero G. & Arellano B. INIFAP, México, pp 198 – 209.
16. Dogannay M., & Aygen B. 2003. Human Brucellosis: an overview. Int J Infect Dis; 7: 173 – 182.
17. Howell D., 2001. Méthodes Statistiques en Sciences Humaines, Editorial Deboeck Université, París, pp. 153 – 180.
18. Iriarte M., González D., Delrue R., Monreal D., Conde R., Lopez-Goñi I., Letesson J., Moriyon I., 2004. Brucella Lipopolysaccharide: Structure, Biosynthesis and Genetics In: Molecular and Cellular Biology, López-Goñi Ignacio e Moriyón Ignacio, editorial Taylor & Francis e-Library, Pamplona, pp. 153 – 183.
19. Koneman E. 1992. Bacilos gramnegativos diversos nutricionalmente exigentes. In: Diagnóstico Microbiológico. Koneman E., Allen S., Dowell V., Janda W., Sommers H., Winn W., editors. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pp. 335 – 337.
20. Mellado A. 1996. Géneros *Brucella*, *Legionella* y *Pasteurella*. In: Microbiología Médica. García-Rodríguez J., & Picazo J., editors. Mosby, Madrid, pp. 267 – 278.
21. MERCK. 2004. Brucelosis. In: El Manual Merck de Veterinaria. Oceano Centrum, Barcelona, España pp. 114.
22. Moreno S., Guinea L., Carrero P., Visedo R., García S., Calvo del Olmo T., Reverte T. 1992. El Diagnóstico de la Brucelosis en un Área Endémica. Valoración de las Pruebas Diagnósticas Habituales, Med Clin (Barc); 98: 481 - 485.
23. Nicoletti P. 2000. Vaccination, In: Animal Brucellosis, Nielsen K., Duncan J., Editorial CRC, Florida. 283 – 300.
24. Orduña A., Abad R., Zarzosa M., Dueñas A., Mantecón M., Eiros J., Rodríguez A. 2001a. Diagnóstico Microbiológico de la Brucellosis. In: Manual de brucelosis. Rodríguez T., Orduña A., Ariza X., Morrión I., Díaz R., Blasco J., Amaras A., Martínez F., Ruiz C., Abad R. Junta de Castilla y León, España, pp. 121 – 138.
25. Orduña A., Bratos M., Abad R., Ruiz L., de Frutos M., Rodríguez A., 2001b. La Brucelosis. Etiología y Origen de la Infección Humana. In: Manual de brucelosis. Rodríguez T., Orduña A., Ariza X., Morrión I., Díaz

- R., Blasco J., Amaras A., Martínez F., Ruiz C., Abad R. Junta de Castilla y León, España, pp. 13 – 20.
26. Orduña A., López L., Gómez M., Gutiérrez P., Fernández J., Rodríguez A., 2001c. Patogenia de la Brucelosis Humana. In: Manual de brucelosis. Rodríguez T., Orduña A., Ariza X., Morrión I., Díaz R., Blasco J., Amaras A., Martínez F., Ruiz C., Abad R. Junta de Castilla y León, España, pp. 99 – 112.
  27. Smits H., Abdoel T., Solera J., Clavijo E., Diaz R., 2003, Immunochromatographic Brucella-Specific Immunoglobulin M and G Lateral Flow Assays for Rapid Serodiagnosis of Human Brucellosis, Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology, Nov. 2003, p. 1141–1146
  28. Weimer R. 2004. Estadística, Editorial Compañía Continental, México D.F., pp. 551 – 575.
  29. Young E., 1997, Especies de Brucella. In: Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas. Cuarta Edición. Mandell G., Bennett J., Dolin R., editors. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pp. 2301 – 2307.

## Revistas.

1. Álvarez P. 2001. Situación de la brucelosis en América; Panorama General. In: Diagnóstico de Brucelosis Animal. Días E. Hernández L, Valero G, Arellano B, ed. México, pp 9-18
2. Barroso-García P., Rodríguez-Contreras P., Parrón T., Ocaña R., 2001. Evolución de las Tasas de Brucelosis en la provincia de Almería durante el período 1972 – 1998, Medicina de Familia (And) Vol. 2, N.º 3, octubre 2001.
3. Barroso-García P., Parrón T, Rodríguez-Contreras R., 2001. Estudio descriptivo de la brucelosis en la provincia de Almería. Evolución de mecanismos de transmisión. Medicina Familiar (And) Vol. 2, Nº 1, marzo 2001.
4. Cano Celada José Pedro., Camacho González Linda A.: Brucelosis Bovina. noviembre 2001.
5. Corbel MJ. 1997. Brucelosis: an Overview Emerging Infectious Diseases Journal. 3:213-221.
6. Gil A., & Sanmartino L. 2000. Zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina, Food and Agriculture Organization, pp 23-30

7. Haro R. 2003. I Informe Sobre Recursos Zoogenéticos. Ecuador, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Subsecretaria de Fomento Agroproductivo, Quito, pp. 1 – 8.
8. House W., 2004. Atlas Brucella Test (Rose Bengal), editorial Atlas Medical, última revisión pp 6 – 12.
9. Hovingh Ernest.,2002. Abortions in Dairy Cattle. Common Causes of Abortions. Virgine cooperative extension.pp 5-10.
10. León R. 2003. Pastos y Forrajes, Producción y Manejo, Ediciones Científicas Agustín Alvarez A. Cía Ltda. Quito, Ecuador. pp 1 – 28.
11. MAG. 2006. Boletines de Prensa. Boletín N. 150 DCS/MAG. Quito, 26 de septiembre de 2006.
12. Mariño O. sf. Avances en el Diagnostico de la Brucelosis. FAO/IAEA.
13. Mancera-Martinez A. 2001. Prueba del Antígeno Brucelar Amortiguado o de Tarjeta, In: Diagnóstico de Brucelosis Animal. Díaz E., Hernandez L., Valero G. & Arellano B., INIFAP, México, pp 80 – 81.
14. Miño-Vega E, Pico-Melendez F, Ron Román J, Rodríguez-Hidalgo R, Proaño Perez F, Celi Erazo M, Barrionuevo Samaniego M, Chavez Larrea M, Brant J, Benitez Ortiz W. 2003. Prospeccion de anticuerpos contra *Brucella spp* en explotaciones ganaderas del canton Mejia. Pichincha-Ecuador.
15. Moriyón I., Díaz R., López-Goñi I. 2001. Bacteriología del género Brucella. In: Manual de brucelosis. Rodríguez T., Orduña A., Ariza X., Morrión I., Díaz R., Blasco J., Amaraz A., Martinez F., Ruiz C., Abad R. Junta de Castilla y León, España, pp. 21 – 30.
16. Orduña A., Almaraz A., Prado A., Gutierrez M., García-Pascual A., Dueñas A., Cuervo M., Abad R., Hernandez B., Lorenzo B., Bratos M., Rodríguez-Torres A. 2000. Evaluation of an Immunocapture-Agglutination Test (Brucellacapt) for Serodiagnosis of Humana Brucellosis. Journal of Clinical Microbiology, p 4000-4005 Vol. 38, No 11. American Society for Microbiology.
17. Padilla F., Picão V., Pereira A. 2002. Brucellosis in Brazil. Veterinary Microbiology 90: 55–62. Elsevier Science B.V. All rights reserved.
18. Panamerican Center of Aftose Fever. Organizacion Panamericana de la Salud. Organizacion Mundial de la Salud. PANAFTOSA/OPS/OMS.2000. Situacion de los programas de control de brucelosis en America. Publicacion N° 1. Rio de Janeiro, Brasil.

19. Pasquereau C., 1980. La Brucellose. In: *La Santé Animale*. Bretenet G., Delclos G., Lombard M., Lignièrès R., Pasquereau C., editors. Ministère de L'Agriculture, Paris, pp. 74 – 138.
20. Pila-Perez R., Pila-Peláez R., Basulto M., Hernández O., García-Peña J., Torres G. 1997. Estudio Clínico de la Brucelosis Humana. *Revista Médica Uruguay*.13: 110 – 117.
21. Ron-Román J., Saegerman C., Berkvens D., Benítez-Ortíz W. 2008 In Press. Brucelosis en el Ecuador, aproximación bibliográfica a la situación actual. Institute of Tropical Medicine, Department of Animal Health. Antwerp.
22. Ruiz-Castañeda M. 1954. Brucelosis, Segunda edición. La prensa médica mexicana. México, pp. 1 – 14.
23. Saegerman C., Berkvens D., Godfroid J. & Walravens K. 2007. Bovine Brucellosis. *Historical background*. Bruxelles, Belgium pp. 63-71.
24. Salhi I., Boigegrain R.A., Machold J., Weise C., Cloeckert A., Rouot B. 2003. Characterization of new members of the group 3 outer membrane protein family of *Brucella spp.* *Infect immune*; 71(8): 26-32.
25. Sanmartino EL., 2002 Brucelosis in Argentina. *Veterinary Microbiology*.90: pp 71-80.
26. SESA, 2006. Guía Sobre Buenas Prácticas Pecuarias BPP:
27. SYNBIOTICS Co. 2003. Bengatest. Antigène tamponné acide, coloré par le Rose Bengal pour le diagnostic sérologique de la Brucellose par agglutination rapide sur lame. Inserto-Synbiotics Europe Lyon.
28. SYNBIOTICS Co. 2006. Antigene SAW pour le diagnostic sérologique de la Brucellose par agglutination lente. Inserto-Synbiotics Europe Lyon.
29. Thim B. 1982. *Brucella* Species and Biotypes. In: *Brucellosis: Distribution in Man, Domestic and Wild Animals*. Springer-Verlag. New York, pp. 1 – 8.
30. Vargas FJ. 2002. Brucelosis in Venezuela. *Veterinary Microbiology* 90: pp 39-44.
31. Velasco, J., Moll, H., Knirel, Y.A., Sinnwell, V., Moriyon, I., and Zahringer, U. 2000. Structural studies on the lipopolysaccharide from a rough strain of *Ochrobactrum anthropi* containing a 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose disaccharide lipid A backbone. *Carbohydr. Res.* 306: 283 – 290.

32. Whatmore Adrian M., Shankster Stephen., Perret Lorrain., Murphy Terry., Brew Simon., Cutler Sally., Macmillan Alastair. Identification and Characterisation of variable number Tandem –repeat Markers for typing of *Brucella* sp. Journal of Clinical Microbiology, June 2006 p.1982-1993, vol 44, Nr 6.
33. Whatmore Adrian M., Groussaude Pauline., Shankster Stephen. Koylass Mark. 2007. Molecular typing divides marine mammal strains of *Brucella* into at least three groups with distinct host preferences.
34. World Health Organization. 1997. The Development of New/Improved Brucellosis Vaccines: Report of WHO Meeting. WHO/EMC/ZDI/98.14. Geneva, Switzerland, 11 – 12.
35. World Health Organization. 2006. Brucellosis in Humans and Animals. WHO/CDS/EPR/2006.7. Geneva, Switzerland. Pp. 36 – 56.

## Tesis.

1. Angulo, O. Tufiño, A. (2005). Determinación de la inmunoprevalencia de *Brucella spp.* en explotaciones ganaderas de los cantones Santo Domingo y el Carmen. Tesis para la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador.
2. Benítez-Capistros F., 2008 Sero-prevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp* en caninos de haciendas ganaderas del cantón Mejía, Pichincha, Ecuador, Tesis de grado previa la obtención del título de Licenciado en ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
3. Celi M., Viscaino L. 2004. Determinación de la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp* en las explotaciones ganaderas del cantón Mejía. Tesis de licenciatura en Laboratorio clínico e Histológico. Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador.
4. Faz M. 2011. Estudio seroepidemiológico de la brucelosis en trabajadores de camales de los cantones de la provincia de Pichincha-Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Tesis para la obtención del título profesional de Bioquímica Clínica, pp 65-75.
5. Ponton L., & Ruiz D. 2008. Determinación de la prevalencia predial e individual de brucelosis en los hatos bovinos lecheros asociados a Prolan en la parroquia de Nono, provincia de Pichincha., Escuela Politécnica del Ejército, tesis para obtención del título de Ingeniero Agropecuario, p.56-60.

6. Ron-Román J. 2003. Validación de técnicas diagnósticas para la detección de Brucelosis y estudio epidemiológico en una región Andina del Ecuador. Tesis de Master en Ciencias en Salud Animal. Amberes-Bélgica.
7. Solis T. 2008. Cinética de anticuerpos en terneras inmunizadas contra *Brucdella* mediante vacuna cepa 19 (b-19). Escuela Politécnica del Ejército. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria.

## **ANEXOS**

**Anexo 1. Hoja de trabajo para Rosa de Bengala.**

**CENTRO INTERNACIONAL DE ZONOSIS  
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

**DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS**

**Prueba Rosa de Bengala (RB)**

HOJA N°

Especie:

Fecha:

Fecha muestreo

Procedencia:

N° de Lote

Fecha exp:

Resp

PLACA 1

P ( )

S ( )

N ( )

SC(+)					
SC(-)					

PLACA 2

P ( )

S ( )

N ( )


Observaciones: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_





### Anexo 3. Homogenización de las cúpulas en SAT-EDTA.

Pasos	Cúpulas											
	1(*)	2(*)	3(*)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T- SAT (**)	168	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Suero a investigar	32											
Paso de dilución (100 ul)		↪	↪	↪	↪	↪	↪	↪	↪	↪	↪	↪
T - Ag (**)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubación a 37°C, por 20 horas												
Dilución final	1/12.5	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600

(\*): Diluciones empleadas en la prueba de rutina



#### Anexo 4. Registro de resultados de los animales positivos año 2007.

Identificación	RB	SAT	C19	RB51	VAC	Madre	Edad	FINCA
9827	N	P	V	NA	10/11/1998	NA	NA	El Prado
332	P	N	V	NA	28/05/2004	NA	NA	El Prado
111	N	P	V	NA	19/06/2001	NA	NA	El Prado
210	P	N	V	NA	31/07/2002	NA	NA	El Prado
508	P	N	V	NA	17/11/2005	NA	NA	El Prado
9809	P	N	V	NA	15/07/1998	NA	NA	El Prado
3390	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3389	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3348	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3339	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3341	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
4342	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3343	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3345	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3354	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3351	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3349	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3340	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3326	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3305	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3286	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3333	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3321	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3338	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3336	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3315	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3322	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3337	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3332	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3334	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2475	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2809	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2850	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2945	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3050	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3928	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2729	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2718	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2203	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2912	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2467	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO

3227	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2873	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3141	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2990	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2127	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2898	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2714	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3083	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3167	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3248	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2911	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2916	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Muza	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3936	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3002	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3042	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3886	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2346	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3035	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Elsi	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Falca	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Danua	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3141	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3016	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3961	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3000	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3057	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2839	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2994	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3923	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3030	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3010	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3000	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2495	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2959	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3012	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3963	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3094	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3152	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3019	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Teresa	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3034	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2530	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2886	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Nacha	P	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO

3317	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3061	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2935	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3247	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3839	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3131	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3059	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3245	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2900	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3006	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2328	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Lloa	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2996	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2969	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2009	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3091	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2451	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3015	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3049	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
Debora	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3037	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3001	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3052	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
3009	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
2881	NA	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO

**P: Positivo.**

**SAT: Positivo > 30 UI.**

**NA: Negativo.**

**C19: Vacuna Cepa 19.**

**RB51: Vacuna RB51.**

**VAC: Fecha de vacunación.**

**Fuente. CIZ, 2007.**

**Elaboración. El autor.**

## Anexo 5. Registro de resultados de los animales positivos año 2010.

TUBO	IDENTIFICACION	RB	SAT	C19	RB51	VAC	Madre	Edad	FINCA
20	212	N	P	NA	V	NA	NA	9	El Prado
44	702	N	P	NA	V	NA	NA	4	El Prado
57	815	N	P	NA	V	NA	NA	3	El Prado
60	832	N	P	NA	V	NA	NA	3	El Prado
A8	3040	N	P	V	NA	15/09/2004	AMPARO	8	AYCHAPICHO
A10	3018	N	P	V	NA	16/09/2004	ARQUITECTA	NA	AYCHAPICHO
A21	3012	N	P	V	NA	16/09/2004	EDESA	8	AYCHAPICHO
A28	3052	N	P	V	NA	15/09/2004	CALENDA	8	AYCHAPICHO
A50	3092	N	P	V	NA	16/09/2004	KINA	8	AYCHAPICHO
A54	336	P	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
A58	AGRIPAC	P	N	V	NA	11/01/2006	NA	6	AYCHAPICHO
A96	2727	N	P	V	NA	01/01/2003	NA	9	AYCHAPICHO
A98	80	N	P	NA	NA	NA	NA	11	AYCHAPICHO
A109	3038	N	P	V	NA	16/09/2004	HUMITA	8	AYCHAPICHO
A132	3089	N	P	V	NA	15/09/2004	NA	8	AYCHAPICHO
A138	LB101	P	P	V	NA	02/03/2004	KATTY426	8	AYCHAPICHO
A148	3025	N	P	V	NA	15/09/2004	YOLANDA	8	AYCHAPICHO
A241	3494	N	P	V	NA	27/02/2009	NA	3	AYCHAPICHO
A271	LOURDES	N	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
A284	SAGNAY	N	P	NA	NA	19/12/2006	NA	5	AYCHAPICHO
A287	3350	N	P	NA	NA	13/06/2007	NA	4	AYCHAPICHO
A292	MARIANA	N	P	NA	NA	NA	NA	5	AYCHAPICHO
A341	3238	P	N	V	NA	11/01/2006	NA	6	AYCHAPICHO
A396	LEGAL	N	P	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
A398	2495	P	N	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
A400	3000	N	P	NA	V	31/01/2003	YOLANCA	NA	AYCHAPICHO
A406	NEGRA	P	N	NA	NA	NA	NA	NA	AYCHAPICHO
A422	2994	N	P	V	NA	16/09/2004	SOCA	8	AYCHAPICHO

**P: Positivo.**

**SAT: Positivo > 30 UI.**

**NA: Negativo.**

**C19: Vacuna Cepa 19.**

**RB51: Vacuna RB51.**

**VAC: Fecha de vacunación.**

**Fuente. Investigación directa.**

**Elaboración. El autor.**



**Anexo 6. Formato de encuesta epidemiológica.**



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
CENTRO INTERNACIONAL DE ZONOSIS-CIZ  
ENCUESTA DE LA EXPLOTACION (UPA)  
BRUCELOSIS**

**IDENTIFICACION Y LOCALIZACION DE LA EXPLOTACION**

Coordenadas GPS.....

Fecha:.....

Nombre de la explotación:.....

Propietario:.....

Provincia:..... Cantón:.....

Persona encuestada:.....

Cargo:.....

**DATOS GENERALES**

Cuale es la superficie de la explotación.....

Qué tipo de producción bovina posee:.....

Posee otro tipo de animales.....

Cuales:.....

Moviliza animales de otras  
propiedades.....

Posee certificación de predio libre.....

Está en proceso de certificación..... desde que fecha.....

Los animales de reemplazo poseen algún tipo de  
certificación.....

Que tratamiento le da al estiércol dentro del potrero.....

Que tratamiento le da al estiércol dentro de la nave de  
ordeño.....

Descarta usted a los animales enfermos.....

## **SISTEMA DE REPRODUCCION**

Sistema reproductivo empleado

Monta natural

Inseminación

Mixto

Existe un lugar específico para pariciones.....

## **MANEJO DE ABORTOS**

Se producen abortos regularmente.....

Cuál es el destino de los tejidos abortados.....

Se realiza control veterinario.....

Existe brucelosis en la finca.....

**Elaboración. El autor**