



UNIVERSIDAD TECNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE AGRICULTURA, SILVICULTURA, PESCA Y
VETERINARIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Trabajo de Integración curricular, presentado al H. Consejo Directivo de la facultad, como requisito previo a la obtención de título de:

MÉDICA VETERINARIA

TEMA:

“Determinación de *Brucella spp.* en leche en hatos ganaderos en zona sur de la Provincia de Los Ríos”

AUTORA:

Daniela Dayanara Vera García

TUTOR:

Dr. Juan Carlos Medina Fonseca Msc.

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

2023

ÍNDICE GENERAL

1.1	Contextualización de la situación problemática	1
1.2	Planteamiento del problema	2
1.3	Justificación	2
1.4	Objetivos de la investigación	3
1.4.1	Objetivo general.....	3
1.4.2	Objetivos específicos.....	3
1.5	Hipótesis	3
2.1	Antecedentes de la investigación	4
2.2	Bases teóricas	5
2.2.1	<i>Brucella</i> spp	5
2.3	Principales especies de <i>Brucella Spp</i>	7
2.3.1	<i>Brucella Abortus</i>	7
2.3.2	<i>Brucella Melitensis</i>	7
2.3.3	<i>Brucella Ovis</i>	8
2.3.4	<i>Brucella Suis</i>	8
2.4	Brucelosis	9
2.5	Brucelosis en bovinos.....	9
2.6	Agente Causal	11
2.7	Patogenia.....	12
2.8	Patogénesis	12
2.9	Signos y Síntomas.....	13
2.10	Transmisión	14
2.11	Periodo de incubación	14
2.12	Maneras de infección.....	15
2.13	Diagnostico	15
2.13	Pruebas Diagnosticas.....	15

2.13.1 Examen Bacteriológico	15
2.13.2 Pruebas serológicas	16
2.14 Tratamientos	17
2.15 Vacunas	17
2.16 Estrategias de prevención y erradicación según el programa de brucelosis establecido en el Ecuador.	18
2.17 Estudios de brucelosis realizado en Ecuador	19
3.1 Tipo y diseño de la investigación.....	23
3.2 Operación de la variable	24
3.3 Población y muestra de investigación	24
3.3.1 Población	24
3.3.1.1 Selección de la finca.....	24
3.3.1.2 Número de muestras por finca	24
3.3.1.3 Tamaño de la muestra.....	24
3.4 Técnica e instrumento de medición	25
3.4.1 Técnica.....	25
Metodología de campo.	25
Metodología de laboratorio	25
Prueba de aglutinación Rosa de bengala en leche cruda.....	25
3.4.2 Instrumentos	26
3.5 Procesamiento de datos	27
3.6 Aspecto éticos.....	27
4.1 Resultados	28
4.1.1 Incidencia de Brucelosis bovina mediante el test de aglutinación de Rosa de Bengala	28
4.1.2 Determinación de Brucelosis bovina mediante el test de aglutinación de Rosa de Bengala, de acuerdo a la procedencia	28

4.1.3 Determinar la distribución porcentual de la Brucella spp. en leche en bovinos en la zona sur de la Provincia de Los Ríos, de acuerdo al tipo de explotación	30
4.2 Discusión	33
5.1 Conclusiones	34
5.2 Recomendaciones	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales especies de <i>Brucella Spp</i> y sus hospederos	6
Tabla 2. Taxonomía.....	10
Tabla 3. Prevalencia de brucella en el medio ambiente	11
Tabla 4. Determinación de brucelosis en ganado lechero	20
Tabla 5. Investigaciones desarrolladas sobre brucelosis bovina en leche cruda.....	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Materiales para realizar el muestreo de brucella spp en leche cruda.....	45
Figura 2. Utilizando la micropipeta para recolectar 30 micra de leche.	45
Figura 3. Observando los resultados en la placa de aglutinoscopio que si dan positivos o negativos	46
Figura 4. Visita de mi tutor en unos de los predios	46
Figura 5. Visita de mi tutor y coordinadora de titulación	46

Resumen

La brucelosis a nivel mundial es una enfermedad infectocontagiosa, aguda o crónica, Aunque desde hace muchos años se implementan diversos programas para controlar y erradicar la brucelosis bovina, la brucelosis bovina está presente en casi todos los países de América del Sur. Es una enfermedad zoonótica con enormes consecuencias económicas y un delicado problema de salud pública. En Ecuador se registra un alto índice de la enfermedad; en humanos se transmite mediante los animales infectados, para ello se realizará el estudio en la provincia de Los Ríos. El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinación de *brucella spp* en leche en los hatos ganaderos de la zona sur misma que se tomaron 66 muestras de leche correspondiente a 66 fincas las cuales se encontraron distribuidas en 4 cantones perteneciente en la zona sur de la provincia de los Ríos (Babahoyo, Vinces, Palenque, Baba). Los casos positivos de *Brucella spp* fueron evaluados mediante la prueba no paramétrica del chip cuadrado. Los casos fueron 4 positivos que representa el 6,06%. Cabe recalcar que los casos positivos en su mayoría fue Vinces con el 3 %, mientras que Baba se dio 1 positivo que es 1,5% seguido de Babahoyo con el 1,5% de brucelosis y obteniendo cero casos positivos en la zona de palenque.

Palabras clave: Brucelosis, bovinos, enfermedad, zoonótica, leche.

Abstract

Brucellosis worldwide is an infectious, acute, or chronic disease. Although various programs have been implemented for many years to control and eradicate bovine brucellosis, bovine brucellosis is present in almost all South American countries. It is a zoonotic disease with enormous economic consequences and a delicate public health problem. In Ecuador there is a high rate of the disease; In humans it is transmitted through infected animals, for this the study will be carried out in the province of Los Ríos. The objective of this research work was determination of brucella spp in milk in livestock herds in the southern zone, where 66 milk samples were taken corresponding to 66 farms which were found distributed in 4 cantons belonging to the southern zone of the province. of the rivers (Babahoyo, Vinces, Palenque, Baba). Positive cases of Brucella spp were evaluated using the non-parametric square chip test. The cases were 4 positives, which represents 6.06%. It should be noted that the majority of positive cases were Vinces with 3%, while Baba had 1 positive case, which is 1.5%, followed by Babahoyo with 1.5% brucellosis and obtaining zero positive cases in the Palenque area.

Keywords: Brucellosis, cattle, disease, zoonotic, milk.

CAPÍTULO I.- INTRODUCCION

1.1 Contextualización de la situación problemática

La brucelosis a nivel mundial es una enfermedad infectocontagiosa, aguda o crónica, que esto puede afectar a los animales como también en muchos casos al hombre, es causada por bacterias del género *Brucella*. En la actualidad se conocen seis especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. neotomae* del grupo S y *B. ovis* y *B. canis* del grupo R. En las cepas de *Brucella* que son de una misma especie difieren en algunas características, lo que ha permitido clasificarlas en biotipos para estudios epidemiológicos. (Lopez J. & Best, 1998).

La brucelosis bovina, está presente en casi todos los países sudamericanos esto es a pesar de que hace muchos se han establecidos diversos programas de control y erradicación de la brucelosis bovina. En la mayoría de los casos se basa en la vacunación de terneras, identificación y eliminación de animales positivos. (Samartino, L., 2016)

La brucelosis es zoonótica que es de gran impacto en el ámbito económico, además de representar un delicado problema de salud pública. La cual esto puede llegar a provocar una gran disminución de en lo que es la producción de leche en bovinos. (Evangelista, T. B. R., et al, 2005)

La manifestación clínica de la brucelosis bovina más común es el aborto después del quinto mes, la retención de placenta y la infección uterina, las hembras infectadas llegan a concebir y pueden tener el parto con normalidad; en esos casos, los pocos terneros que nacen vivos son débiles y prematuros y mueren. Por lo tanto, las descargas genitales de esas hembras son fuente de infección para el resto del hato. (Alba Solano, J, 2022)

En el Ecuador sobre la situación de la enfermedad que indica una alta prevalencia de la enfermedad; por lo tanto, se reportan el tamaño de los rebaños como uno de los principales factores de riesgo para la presentación de la enfermedad (Marina Zambrano, 2016). Sobre otros estudios que fueron realizado

en la provincia ecuatoriana de Carchi esto nos indican que la prevalencia de la brucelosis bovina está muy relacionada con la densidad de la población del ganado. También se han reconocido como factores de riesgo en el país la introducción como reemplazo de animales originarios de ferias, falta de inmunidad de los animales, el tipo de reproducción y la falta de pediluvios en la entrada de las fincas. (Zambrano Aguayo .,et al, 2016)

La transmisión a los seres humano es mediante el contacto directo con secreciones de aquellos animales que se encuentren infectados, también se da por el consumo de subproductos de origen animal contaminados como, por ejemplo, queso y leche no pasteurizada, carne cruda y por transfusiones sanguíneas. (Mendez Lozano M., et al, 2015)

Por lo antes mencionado, la presente investigación realizará un estudio epidemiológico para la determinación de *Brucella spp.* en leche en la zona sur de la Provincia de Los Ríos.

1.2 Planteamiento del problema

La Brucelosis Bovina ocasiona grandes problemas especialmente pérdidas económicas dentro del sector pecuario dichas pérdidas directas se deben a los abortos y/o partos prematuros, retención de placenta, infertilidad temporal o definitiva, así como una disminución de la producción láctea y otras pérdidas indirectas.

La Brucelosis puede estar presente en muchas especies domésticas, pero su mayor impacto socioeconómico se da en la especie bovina y en forma muy particular las razas productoras de leche, por el tipo de manejo que están sometidos lo que facilita su presencia y diseminación en el hato en este caso en la zona sur de la Provincia de Los Ríos.

1.3 Justificación

La brucelosis bovina es una enfermedad zoonótica esta puede llegar a representar grandes pérdidas económicas por lo que produce el aborto, por los efectos que esta produce en el sector agropecuario en la zona sur de la Provincia de Los Ríos, con los resultados obtenidos vamos a dar a conocer la situación

sanitaria de esta zoonosis en las unidades de hatos ganaderos de producción de leche.

La brucelosis puede generar grandes pérdidas económicas que se genera en la ganadería nacional y el gran impacto que tiene en la salud pública, ya que su incidencia ha aumentado de forma radical.

La investigación se llevará a cabo para obtener información sobre la Determinación de *Brucella spp.* en hatos ganaderos de la zona sur de la Provincia de Los Ríos, se diagnosticará mediante la técnica de Rosa de Bengala.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo general

- ✚ Determinar la *Brucella spp.* en leche en hatos ganaderos de la zona sur de la Provincia de Los Ríos.

1.4.2 Objetivos específicos

- ✚ Diagnosticar Brucelosis bovina en leche mediante la técnica de test aglutinación de Rosa de bengala.
- ✚ Determinar la distribución porcentual de la *Brucella spp.* en leche en bovinos en la zona sur de la Provincia de Los Ríos.

1.5 Hipótesis

H₀: La técnica del test de aglutinación de Rosa de bengala revelará que en la zona sur de la provincia de Los Ríos en los cantones (Babahoyo, Baba, Vinces y Palenque) no existen un alto porcentaje de brucelosis bovina.

H_a: La técnica del test aglutinación de Rosa de bengala revelará que en la zona sur de la provincia de Los Ríos en los cantones (Babahoyo, Baba, Vinces y Palenque) si existe un alto porcentaje de brucelosis bovina.

CAPITULO II.- MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de la investigación

(Álvarez & Díaz, 2015) establece que en el año 1968 la Organización Mundial de la Salud confirmó que la patología responsable de pérdidas económicas a gran escala es la brucelosis.

El médico Bernhard Bang en el año de 1897 identificó la bacteria de la *Brucella abortus* a inicio de una infección, que posterior pasó a ser una enfermedad, también conocida como patología de Bang haciendo referencia a su descubridor. La forma de transmisión al ser humano se produce por la ingesta de leche no pasteurizada y alimentos infectados siendo esta la causante de enfermedades debilitantes. (Organización Mundial de la Salud animal, 2023)

Dicha patología presenta un gran impacto enfocado en la salud pública debido a la falta de interacción con la misma, al no presentar énfasis en la salud pública veterinaria y al no establecer un control de la misma se convirtió en una de las zoonosis de mayor importancia a nivel mundial. (Álvarez & Díaz, 2015)

Mediante un estudio realizado por (Agrocalidad, 2016) determinó que la brucelosis es una enfermedad cuyo agente causal son bacterias que afectan múltiples especies animales, entre ellas la más importante es la *Brucella abortus* que afecta principalmente a la especie bovina, dichas afecciones. La brucelosis es denominada también como una zoonosis que es causante de infecciones crónicas haciendo que las especies presenten episodios de abortos y dificultades reproductivas y a su vez es muy común la retención placentaria.

En los últimos años se han realizado en el Ecuador varias investigaciones con el fin de aislar *Brucella* spp., a partir de muestras de leche cruda procedentes de bovinos seropositivos; encontrándose hasta un 36% (9/25) en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas (Richar Rodríguez Hidalgo, 2015) Del mismo modo, se ha reportado el aislamiento a partir de ganglios linfáticos provenientes de bovinos seropositivos en un 45% (5/11) en la provincia del Carchi (Carlosama,

2013) y en un 16% (4/25) en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas (Richar Rodríguez Hidalgo, 2015).

En estudios previos a partir de estos derivados de la leche se aislaron especies de *Brucella*. sin embargo. El 11% de la población del estado mexicano de Tabasco se encuentra en cuarentena (r. Guzmán et al., 2016). En 2017 se realizó una encuesta en el Caribe Colombia, aunque no se obtuvieron aislamientos. El 22,2% indicó la presencia del agente causal por motivos biológicos. Moléculas (Soto-Varela et al., 2017). En un estudio experimental que se llevó a cabo Santiago et al. (2015) quienes evaluaron la tasa de supervivencia de *Brucella*.

Respecto al queso, en el Ecuador no se han realizado estudios previos para aislar especies de *Brucella spp* a partir de estos derivados lácteos. Pero en el estado mexicano de Tabasco (R. Guzmán et al., 2016). En 2017 se realizó un estudio en la región Caribe de Colombia y a pesar de que la biología molecular mostró una presencia del patógeno del 22,2%, no se obtuvieron aislamientos (Soto-Varela et al., 2017). En un estudio experimental de Santiago et al. (2015), donde se comparó la tasa de supervivencia de *Brucella abortus* con mutaciones en el gen aproximado con la de *Brucella spp*.

Durante la producción y almacenamiento de queso fresco y queso añejo, donde se recuperaron las bacterias en ambos casos, *brucella Abortus* sin la mutación, determinando que la media la tasa de supervivencia del queso fue de 14 y 24 días, respectivamente. Respecto a (Mendez Lozano M., et al, 2015) determinaron que la bacteria *Brucella* podría sobrevivir en la producción y maduración de queso de cabra artesanal contaminado experimentalmente hasta por 21 días. Por otro lado, se han reportado casos de brucelosis en humanos, posiblemente en la dieta de queso.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Brucella spp

La brucelosis originalmente se llamaba fiebre deslizante porque la temperatura corporal del paciente aumenta desde un nivel normal (36,5°C) a más de 40°C. Del siglo XIII al XVII, la enfermedad se conoció como fiebre mediterránea

o fiebre de Malta, ya que durante este período se registraron muchos informes en todo el Mediterráneo. En 1810 sirvió como médico en el ejército británico; William Burnett fue el primero en distinguir entre los distintos tipos de fiebre que afectaban a los marineros que vivían en el Mediterráneo. (Pacheco, 2013)

La brucelosis bovina está actualmente incluida dentro de las enfermedades de declaración obligatoria de la OIE. La enfermedad tiene un mayor impacto económico e industrial debido a la baja producción de leche y carne.

Se ha determinado que dentro de las especies que conforman el género brucella se encuentran varias especies las cuales son consideradas como posibles potenciales zoonóticos entre las cuales se presentan: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. Ceti* y *B. pinnipedialis*. En cuanto a su estructura se clasifica de la siguiente manera, en base a su composición del lipopolisacárido en dos grupos: cepas lisas que son *Brucella melitensis*, *B. abortus* y *B. suis* o en cepas rugosas las cuales se encuentran constituidas por un lípido, en su núcleo constituido por oligosacárido y por cadenas cortas o a su vez no presentes tales como *B. canis* y de *B. ovis*, respectivamente. (Sánchez 2013)

Tabla 1. Principales especies de *Brucella Spp* y sus hospederos

Especie	Hospedadores Conocidos
<i>B. melitensis</i>	Bovinos, Caprinos, ovinos, cánidos, hombre.
<i>B. abortus</i>	Bovinos, cánidos, hombre
<i>B. suis</i>	Porcinos, cánidos, hombre
<i>B. canis</i>	Cánidos, hombre
<i>B. ovis</i>	Ovinos
<i>B. neotomae</i>	Roedores
<i>B. Ceti</i>	Delfines, marsopas, ballenas
<i>B. pinnipedialis</i>	Focas
<i>B. microti</i>	Zorros rojos, roedores de campo

<i>B. inopinata</i>	Desconocido
----------------------------	-------------

Fuentes: (Secretaría de Salud, 2012).

2.3 Principales especies de *Brucella Spp*

2.3.1 *Brucella Abortus*

El género bacteriano correspondiente a *Brucella* se caracteriza por su debilitante capacidad para infectar múltiples especies, incluidos vertebrados domésticos, animales de granja, mascotas, vida silvestre y mamíferos marinos. (Wareth, et al., 2021).

Rivers et al. (2006), *B. abortus* es una especie de bacterias Gram negativas constituidas por un lipopolisacárido (LPS) que es inmune dominante que posee la característica de mantenerse vivo dentro de las células que son fagocitadas y a su vez constituyen un factor de virulencia.

Específicamente, en el ganado bovino la posición de la bacteria se establece en la placenta y órganos que constituyen al aparato reproductor estableciendo así una respuesta inmune frente *B. abortus*, patógeno de características facultativas intracelulares que su prevalencia depende de la activación de inmunidad por medio de células, mediante la aparición de células T CD4⁺ de tipo Th1, que se encargan de secretar interferón gama (INF- γ) , citoquina que es el estimulante de la actividad bacteriostática de los macrófagos como es la actividad de los linfocitos T CD8, siendo capaces de la destrucción de células infectadas por brucella. (Rivers, et al., 2006)

2.3.2 *Brucella Melitensis*

(Baily, et al., 1992) *B. melitensis* es considerado como el agente etiológico que se produce en la mayor parte de los casos en los cuales se presenta brucelosis en ganado ovino y caprino (Gob mx, 2021). Es caracterizada por afectar a pequeños rumiantes, los mismos que son considerados como una fuente importante en cuanto a la producción nos referimos; las principales manifestaciones

clínicas son orquitis en los machos y en las hembras de produce una significativa reducción de producción de leche. (Byndloss & Tsolis, 2016)

Pertenece al género *Brucella* son conocidas por ser Brevibacterias o cocos gramnegativos, de 0,5-0,7 x 0,6-1,5 micras de tamaño, aerobios, inmóviles, no son formadoras de esporas ni capsulas y a su vez tienen la característica de crecer lentamente (INSST, 2021). A su vez se encuentran complementados por dióxido de carbono y producción de sulfhídrico ayudando a la prolongación de tiorina y fucsina. La presencia de estos tres compuestos es causante de enfermedades en pequeños rumiantes clasificados en biovars: un biovar en América central, dos biovars en África y biovar 3 es predominante en el mediterráneo. (Cevallos, 2013)

2.3.3 *Brucella Ovis*

B. ovis se considera una de las cepas estrictas que carecen de la presencia de cadenas laterales de lipopolisacáridos características de este tipo de bacterias que afectan a ovejas y cabras, pero no se consideran bacterias zoonóticas. (Ruiz, et al., 2021).

Es considerado al carnero como el huésped natural de la bacteria perteneciendo a *Brucella ovis*. Consideradas como una bacteria peligrosa debido al desarrollo de cepas mutantes las cuales han sido fundamentadas para la elaboración de vacunas desarrollando inmunidad en carnero. (Fachini, et al., 2020)

2.3.4 *Brucella Suis*

Gramnegativos intracelulares facultativos que han sido determinados en presencia de muchas patologías de algunas especies animales, la de mayor conocimiento es la *Brucella suis* que afecta de manera directa a los porcinos, la forma de propagación puede variar en cuanto a las especies que puede llegar a infectar a algunas especies animales, el método de infección de esta patología se basa en el contacto con tejidos, fluidos e inclusive partículas de inhalación de aerosoles. (Kneipp, et al., 2023)

B. suis y *B. canis* son consideradas como cepas similares en cuanto a las manifestaciones clínicas que presentan, sin embargo, el tipo de brucella suis es considerada como una de las razones de presencia de enfermedades emergentes en caninos. (Landis & Rogovskyy, 2022).

2.4 Brucelosis

Es conocido que la brucelosis es capaz de afectar a una variedad de especies animales incluidos los mamíferos, entre los cuales el ganado bovino es uno de los principales son el ganado bovino, equino, porcino, ovino, caprino, entre otros, siendo estos determinados como de importancia económica. (Álvarez & Díaz, 2015).

(Calderón, et al., 2019) Determinan que la presencia de brucelosis en el ganado es conocida por ser causante de abortos, muertes prematuras y baja producción de leche, al momento en el que nacen los terneros presentan debilidad y un signo específico es la muerte en los primeros días de nacimiento, en cuanto a las hembras presentan retención de la placenta y metritis siendo la causante de problemas reproductivos, distancia entre días de concepción, entre otros.

2.5 Brucelosis en bovinos

A partir de la presencia de brucelosis a partir de la bacteria *Brucella abortus* siendo la principal causa de infecciones en el ganado vacuno causando afecciones crónicas en el ganado e incluso hasta el hombre. (Zambran.,et al , 2016).

La brucelosis es conocida por su amplia distribución geográfica entre los cuales se presenta en países de Sudamérica, hace años atrás se han establecido programas de control sanitario contra esta patología y así buscar la erradicación de la brucelosis centrándose como método más eficaz en la vacunación, identificación y eliminación de animales infectados. (Samartino, L., 2016)

La forma de infección más común en los rumiantes es por vía oral, nasal o conjuntival, una vez que la bacteria brucella haya atravesado las mucosas procede a situarse en los linfonódulos retrofaríngeos o submaxilares, para de al pasar a

infectar a otros órganos linfoides como el bazo, ganglios iliacos y los retro mamarios. (Samartino, L., 2016).

Tabla 2. Taxonomía

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Proteobacteria alfa
Orden	Rhizobiales
Familia	Brucellaceae
Género	Brucella

Fuente: Winn et al., 2008.

Un reducido número de bacterias conforman el género *Brucella*, de características gramnegativas relacionadas entre sí. De diámetro y longitud pequeño (0.4 a 0.8 x 0.4 a 2.5 μ , aerobias carentes de cápsulas ni esporas que se aíslan entre sí para la formación de grupos, se establece que para que sea óptimo el desarrollo de estas bacterias deben encontrarse a una temperatura de 37 °C y contar con un pH semi alcalino de y pH 6.6 a 6.8. La brucelosis es considerada como una de las patologías de mayor importancia en el sector pecuario, veterinario, económico y en la salud pública. (Vera Ganchozo, 2013)

Tabla 3. Prevalencia de brucella en el medio ambiente

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche a temperatura ambiente	2- 4 días
Fluidos y secreciones	10 – 30 minutos
Lanas de deposito	110 días
Agua a 37°C y ph 7,5	Menos de un día
Agua a 8°C y ph 6,5	Mas de 57 días
Fetos mantenidos en sombra	6 – 8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8°C	1 – 2 meses
Cuero manchado con excremento	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1 – 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días

Fuente: (Castro, et al., 2005).

2.6 Agente Causal

Según lo dicho por (Cevallos, 2013) el género de bacterias perteneciente a *Brucella spp* es conocido por ser un patógeno intracelular pudiendo así tener un tiempo de vida largo en los fagocitos, bacteria gramnegativa, cocobacilar y anaeróbica.

La *Brucella spp* es caracterizada por desarrollarse en los macrófagos durante un tiempo prolongado, cuando ya se encuentra situada dentro de la célula previniendo así la fusión fagosoma-lisosoma acidificando el medio ambiente y a su vez siendo productora de enzimas oxidantes como la guanosina 5 monofosfato y la adenina, estas son unas las precursoras del desarrollo de la bacteria.(Cevallos, 2013).

(Pacheco, 2013), menciona que las cepas de dicha bacteria se encuentran clasificadas según su morfología, siendo estas lisas y rugosas; por la presencia de lipopolisacáridos que son aquellos que brindan la respectiva resistencia y es regulador de la respuesta inmune en los huéspedes. Las cepas lisas se encuentran conformadas por *B. abortus*, *B. suis*, *B. Melitensis* y *B. neotomae*, aquellas que presentan un mayor tipo de virulencia en los mamíferos. En cuanto a las cepas rugosas se constituyen por *B. ovis*, *B. canis* y *B. maris* son patógenos leves.

2.7 Patogenia

Rivas (2015) describe que *Brucella* es un patógeno intracelular facultativo, por lo que su virulencia se debe a su resistencia a los efectos bactericidas de los componentes séricos normales y a su capacidad para adherirse, entrar y multiplicarse en células fagocíticas y no fagocíticas. Su localización intracelular los protege de mecanismos efectores dependientes de antibióticos y anticuerpos que determinan la naturaleza crónica de la infección. (Pacheco, 2013)

Este microbio suele estar presente en la mama entre gestaciones. El microorganismo permanece en el sistema reticuloendotelial de la ubre, por lo que se excreta en la leche, por lo que es importante identificar a los animales infectados, ya que esta enfermedad es considerada la más importante desde el punto de vista de la salud pública. Esta bacteria también se encuentra en el eczema y la artritis, en los testículos y el epidídimo (provoca inflamación severa) y en las vesículas seminales (puede causar infertilidad si ambos testículos están afectados). (Jimenez Pacheco, 2012)

2.8 Patogénesis

La brucelosis se transmite por contacto placentario, muerte, líquido amniótico, secreciones vaginales, mucosa digestiva, rasguños nasales, conjuntivales o cutáneos. También se ha determinado que la ingesta de leche es una fuente de infección, ya que la ubre es un sitio favorecido para *Brucella*, particularmente los ganglios linfáticos supra mamarios. Una situación similar ocurre con los espermatozoides, porque el epidídimo contiene bacterias que causan una inflamación infecciosa del tejido. (Rolón, 2020)

Una vez dentro del cuerpo, la respuesta inmune puede fagocitar algunas bacterias. La respuesta inmune innata es la primera línea de defensa contra *Brucella* spp. Inicialmente, los macrófagos no pudieron eliminar *Brucella* spp. Pero tuvieron la oportunidad de resolverlo en 10 días. Varios autores han informado de actividad de los macrófagos durante las primeras 48 a 72 horas. Estas células se activan mediante la interacción entre los receptores CD14 (diferenciación de grupos) y el LPS. Esta interacción produce IL-12, que estimula las células asesinas naturales (NK) y los linfocitos T auxiliares (CD4), que secretan interferón gamma (INF-g), interleucina 2 (IL-2), IL-3, IL6, IL-12. y TNF (factor necrosis tumoral). (Cevallos, 2013)

2.9 Signos y Síntomas

Según Padilla (2006), En los animales, la enfermedad se caracteriza por afectar tanto al aparato reproductor masculino como femenino, provocando fiebre recurrente, abortos, retención placentaria y problemas de fertilidad en el huésped primario, provocando abortos o partos ligeramente prematuros en el último tercio del período de gestación. (DÍAZ, 2018)

En las vacas que se encuentran en estado de gestación los signos de mayor procedencia son los abortos, nacimientos prematuros de terneros a su vez vienen acompañados de debilidad y descargas vaginales. No en todos los casos e incluso en todas las vacas se presentan abortos, pero en las que si se presenta lo realizar entre el quinto y séptimo mes de gestación. Al momento del nacimiento los terneros parecen estar saludables, sin embargo, algunas de las fuentes de transmisión a los terneron son: la ingesta de la leche, mediante las descargas vaginales e inclusive al momento de mantener el contacto con la placenta. Es muy común en hembras infectadas la presencia de retención placentaria, infecciones uterinas, escasa producción de leche. (CDFA, 2021)

En cuanto a los machos, la enfermedad se manifiesta de manera clínica, es aquí donde se puede evidenciar algunos signos como: inflamación de los testículos, epidídimo, vesícula seminal, disminución de monta e inflamación de la bolsa que envuelve a las articulaciones, en especial en las extremidades. (SNCSA, 2023)

2.10 Transmisión

El mecanismo de transmisión de brucelosis en los bovinos ha sido considerado como un gran problema en la salud pública, industrias ganaderas por ser una patología infecciosa que se desarrolla por la ingesta de pastos, forrajes, aguas que se encuentran infectadas, es muy común la presencia de este inconveniente donde no se cuenta con un sistema de agua especializado y que se centre a cada especie y a su vez que se encuentran en vínculo con animales infectados. (Zambrano Aguayo .,et al, 2016)

Otro mecanismo de transmisión conocido se determina en el contacto entre animales que se encuentran en constante roce con excreciones, también se conoce que en la membrana fetal se produce la acumulación de bacterias en vacas determinadas como positivas a brucelosis, las mismas que pueden transmitir la afección por medio de piel indemne de animales estabulados, por contacto con fetos abortados y machos infectados, y por inseminación artificial realizada sin considerar las adecuadas medidas higiénicas. En los machos es muy común la presencia de estas bacterias en el semen y al realizar la monta directa o realizar una inseminación son consideradas como vías de transmisión a hembras libres de esta infección. (Aguayo, et al., 2016)

Otra forma de transmisión conocida es por medio de la vía cutánea mediante la presencia de lesiones en la piel, pezones, extremidades y en el espacio interdigital hará que sea más eficaz la infección por brucella, el animal al estar en contacto con camas infectadas o en el desarrollo del ordeño e inclusive por la ingesta de leche o calostro de una hembra positiva (Reyes, et al., 2010).

La leche que no ha sido pasada por un proceso de pasteurización o que ha sido ingerida cruda puede presentar brucella spp, al ser consumida de esa manera puede formar parte a ser presente de infecciones en humanos (Crúz, 2023).

2.11 Periodo de incubación

El tiempo en la cual se procede a la incubación de la bacteria en el ganado bovino se establece en dos semanas a varios meses en dependencia del estado reproductivo del animal. En algunos casos, las terneras pueden estar infectadas, sin embargo, no presentan signos hasta en el momento en él se encuentran en

gestación y se presenta su primer aborto cuando ya son adultas. Algunas hembras son consideradas por convertirse en portadoras de dicha patología y la forma de excreción no se establece debido a la ausencia de signos. (CDFA, 2021)

2.12 Maneras de infección

Algunas formas de infección incluyen secreciones vaginales, secreciones uterinas, fetos, cápsulas fetales, placenta y líquido amniótico vertidos por mujeres infectadas durante el aborto o el parto, que son los principales modos de eliminación de *Brucella abortus*. (Silva, et al., 2005).

2.13 Diagnostico

Según (Alba Solano, J, 2022) se utilizan diferentes pruebas para detectar diferentes pruebas indirectas o serológicas, y cuando se dispone de resultados, los casos se diagnostican en muestras de leche bovina mediante pruebas positivas, específicas o directas. La prueba indirecta de Elisa se puede utilizar como método inicial de diagnóstico de brucelosis.

Martínez (2017) Se menciona que el laboratorio de Agrocalidad en Ecuador se basa en pruebas serológicas, como la prueba de rosa de bengala, y luego realiza otra prueba de validación para confirmar los resultados, como una prueba ELISA (ensayo inmunoabsorbente tipo enzima o ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas).

2.13 Pruebas Diagnosticas

2.13.1 Examen Bacteriológico

El diagnóstico definitivo de la enfermedad requiere el aislamiento de *Brucella*, generalmente mediante hemocultivos. Los medios bifásicos han sido muy efectivos durante el paso de los años y son un sistema estándar reconocido. En general, se ha confirmado que entre el 75 y el 80 % de las infecciones por *B. melis* se producen con hemocultivos positivos, de los cuales aproximadamente el 50 % se deben a *B. melis*. Aborta. (Ariza, 2023).

El aislamiento de *Brucella* en otras muestras también fue elevado. El organismo se desarrolla de manera óptima en medios comunes y puede crecer en cuestión de días siempre y cuando se cultiva a partir de líquido sinovial, pus de absceso, líquido cefalorraquídeo u otras muestras de tejido, aunque la tasa de recuperación en estos casos suele ser de alrededor del 30%. También en este tipo de muestras, el sistema Bactec 9200 aumentó significativamente la rentabilidad de los cultivos en comparación con los métodos convencionales. (Díaz & Moriyón, 2019)

El aislamiento bacteriano se desarrolla por medio de muestras extraídas de tejidos, membranas fetales, órganos fetales tales como el pulmón, linfonódulos bronquiales, bazo, hígado. También de secreciones vaginales hasta un tiempo prudente de 6 semanas posteriores al aborto, en semen, en leche. Es necesario que se realice de la manera más antiséptica posible, los medios de cultivo, la cantidad de muestras almacenamiento óptimo y rápido muestreo para que de esa forma el diagnóstico pueda ser certero. (Ordoñez, 2018)

2.13.2 Pruebas serológicas

(Morata, et al., 2018) Establece que las pruebas serológicas tienen una gran trascendencia en cuanto a establecer un diagnóstico de brucelosis. La mayor parte de las veces son detectadas mediante anticuerpos frente al lipopolisacárido de la membrana externa limitando así la incapacidad para diferenciar la sensibilidad y especificidad entre infección activa y curada.

Las pruebas clásicas de mayor utilidad son aquellas pruebas de aglutinación sérica de Wright y la prueba de aglutinación de Rosa de Bengala, que poseen la característica de detectar la presencia de anticuerpos aglutinantes, mediante la prueba de aglutinación de Coombs que es la encargada de detectar anticuerpos no aglutinantes, son utilizados en la mayoría de los pacientes con brucelosis. Los resultados negativos de estas tres pruebas descartaron efectivamente la presencia de brucelosis. Es necesario que se utilice antígenos estandarizados y de alta calidad para la evaluación adecuada de los resultados predispuestos, ya que los antígenos inversos son una causa común de títulos poco confiables y confusión diagnóstica. (Ariza, 2023).

2.13.3 Prueba Rosa Bengala

Se trata de una prueba de aglutinación, es característica por su rapidez y eficacia, se la utilizó originalmente como prueba de detección porque proporciona un diagnóstico aproximado en cuestión de minutos. Sin embargo, un punto clave al momento de realizar este procedimiento es que debe ser desarrollado por una persona con experticia. El entorno ácido en el que se realiza el ensayo es bastante favorable para la expresión de componentes de unión a los diferentes anticuerpos. Su sensibilidad y especificidad en el reconocimiento de anticuerpos aglutinados anti-Brucella es muy alta, por lo que es patológicamente negativo sólo en la fase aguda de la infección y raramente en la fase avanzada o crónica de la enfermedad. (Villanueva & Velásquez, 2006).

2.14 Tratamientos

En animales, la brucelosis bovina se controla mediante programas de detección, vacunación y erradicación de animales infectados, pero cabe destacar que el tratamiento de la brucelosis se basa en el control y la prevención.

La enfermedad es crónica y el uso de terapia es imposible, porque las bacterias son intracelulares (leucocitos, macrófagos) e impiden la acción eficaz de las sustancias antibacterianas. (CARDENAS, 2018).

2.15 Vacunas

La vacuna Cepa-19, que es la base de todos los programas de erradicación de la EEB en varios países, es un cultivo vivo de Brucella que contiene $10-60 \times 10^9$ UFC por dosis, liofilizado comercialmente. La presencia de LPS de cadena O en 19 vacunas explica la presencia y persistencia de anticuerpos en suero tras la vacunación con esta vacuna. La dosis subcutánea recomendada para terneros de 3 a 6 meses es de 2 ml ($10-60 \times 10^9$). (Mejia, 2023)

La vacuna RB-51 es una vacuna viva, atenuada, liofilizada y genéticamente estable. Carece de la cadena "O" de lipopolisacáridos en la superficie de la bacteria, lo que determina la presencia de anticuerpos detectables en las pruebas serológicas tradicionales e interfiere en el diagnóstico de la enfermedad. RB51 es

seguro para todas las edades y puede usarse en terneros de hasta cuatro meses. (Mejia, 2023)

2.16 Estrategias de prevención y erradicación según el programa de brucelosis establecido en el Ecuador.

La base general para el control y prevención de la brucelosis bovina es la identificación y eliminación de los animales infectados y un programa de vacunación. (Cortes, et al., 2018).

El control de enfermedades en la mayoría de los países de la región se basa principalmente en la vigilancia serológica de los animales objetivo, seguida del sacrificio de los animales positivos y la vacunación de los terneros con dosis completas o reducidas de *B. abortus* 19. (Refai, 2023)

El enfoque de prevención se basa en la vigilancia, y los métodos de detección pueden incluir pruebas serológicas periódicas y análisis de la leche, así como métodos como la prueba del anillo en el pecho. Estas medidas de vigilancia han sido fundamentales en las campañas de erradicación de enfermedades. Los experimentos con animales individuales también se utilizan para el comercio o el control de enfermedades. (OMS, 2022)

Según el registro oficial establecido por (Agrocalidad , 2016) donde determina que mediante el establecimiento de múltiples artículos en los cuales se refleja lo siguiente:

El artículo 2 prevé la obligación de informar sobre sospechas de brucelosis en diversos lugares relacionados con explotaciones, explotaciones y propiedades. Las quejas deben presentarse ante la oficina nacional del SESA (Servicio Sanitario Agropecuario Ecuatoriano).

El artículo 3 establece que, al tratarse de una enfermedad de declaración obligatoria, la vacunación deberá realizarse en el territorio continental del país y deberá administrarse a terneros de entre 3 y 6 meses de edad.

Las vacunaciones correspondientes deberán ser realizadas por médicos veterinarios y auxiliares de departamentos oficiales autorizados por el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.

2.17 Estudios de brucelosis realizado en Ecuador

Los estudios del estado de la enfermedad en Ecuador mostraron una alta prevalencia de la enfermedad; asimismo, informaron que el tamaño del rebaño fue uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. (Poulsen, et al., 2014).

El censo ganadero más grande del país se realizó en la provincia de Manabí, Ecuador (INSEC, 2012) y aunque se han realizado algunos estudios, en su mayoría relacionados con tesis, no existen estudios científicos publicados para comprender los principales factores de riesgo del ganado. sobre la aparición de brucelosis, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar los principales factores de riesgo asociados a la incidencia de brucelosis en bovinos de esta provincia. (Aguayo, Pérez, & Rodríguez, 2016)

De las 2369 muestras de animales analizadas, 52 fueron positivas y fueron diagnosticadas mediante la prueba de Rosa de Bengala seguida de 49 personas fueron confirmadas positivas por ELISA y la tasa de prevalencia fue del 2,19%.

(Poulsen, et al., 2014) Un estudio de 2014 determinó la prevalencia de brucelosis en ganado lechero en el norte de Ecuador. Entre ellas, se realizaron pruebas de detección del antígeno de la roseta de Bengala a 2.561 vacas lecheras y la prevalencia fue del 5,5%.

Tabla 4. Determinación de brucelosis en ganado lechero

Tamaño del rebaño	Numero de reboños analizados	Ganado probado	No positivo	Prevalencia aparente % (IC 95%)	% prevalencia real IC 95%
+ 5	86	108	0	0,0 (0,0-0,3)	0,0 (0,0-4,0)
5-24	69	635	20	3,1 (3,0-4,8)	3,8 (2,2-6,2)
25-49	13	413	19	4,6 (3,0-7,1)	5,9 (3,3-9,3)
50-74	7	282	1	0,4 (0,1-2,0)	0 (0,0-2,0)
75-99	3	171	16	9,4(5,8-14,7)	12,5(7,3-19,9)
-100	9	952	86	9,0(7,4-11,0)	12,0 (9,6-14,8)
Total	101	2.561	142	5,5(4,7-6,5)	7,2(6,0-8,5)

Fuente: (Poulsen, et al, 2014).

Cuando la vacunación se lleva a cabo en rebaños de ganado vacuno, los estudios han encontrado paradójicamente que las tasas de enfermedad tanto aparentes como verdaderas son más altas en rebaños vacunados que en rebaños no vacunados. Una de las razones es la falta de registros de vacunación, venta y movimiento de animales infectados, lo que indica que cuando se detectó brucella el rebaño fue vacunado esporádicamente, las vacunaciones fueron realizadas por los propios propietarios, pero no el manejo inadecuado de los animales. La vacuna por parte del médico o personal capacitado también es un precursor de su ineficacia.

Tabla 5. Investigaciones desarrolladas sobre brucelosis bovina en leche cruda

Autor	Zona de estudio	Año	Pruebas realizadas	N° de muestras	N° de rebaños	Positivos
(Diego vergara collazos, 2008)	México	2008	Ring Test	247	ND	25%
(Armijos Martínez, 2022)	Quito	2022	PCR, Elisa	59	66	27,71%
(Candela, 2023)	Isla Puna	2015	Rosa de bengala, ELISA	460	55	0%
(MEDINA, 2016)	Pillarito	2016	Rosa de bengala y Elisa competitivo	105	45	1.9%
(Neppan, 2013)	Quito	2013	Ring Test Rosa de bengala, Anillo de leche	1380	Nd	23.2%
(Marina Dalila Zambrano Aguayo, 2014)	Manabí	2014-2015	Rosa de bengala, Elisa competitivo	2369	49	2.19%
(J. LOPEZ, A. BEST, & MORALES)	Chile	1995	Elisa y Ring Test	150	60	8.3%

Fuente: consulta directa.

Elaborado por: Daniela vera, 2023

En general, los resultados determinados sobre la incidencia de brucelosis en bovinos fueron similares a los reportados por el Instituto Veterinario Nacional del Ecuador y Agrocalidad. No obstante, algunos rebaños tienen una prevalencia de enfermedades extremadamente alta. Se encontró una prevalencia muy baja en áreas rurales (animales administrados individualmente) o en grupos pequeños (menos de cinco animales), consistente con la fisiopatología de las bacterias que requieren contacto directo para la transmisión (más común en rebaños de ganado). (Zambrano ,et al ., 2016)

CAPITULO III.- METODOLOGIA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Para el presente trabajo de investigación se utilizó para evaluar los datos, el Método Porcentual para determinar en porcentaje cuantos casos son positivos o negativos a *Brucella spp*, en bovino de leche, mediante la fórmula:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\# \text{ de casos positivos}}{\# \text{ Total de casos muestreados}} \times 100$$

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

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

En donde:

χ^2 = Chi Cuadrado.

F_o = Frecuencias observadas.

F_e = Frecuencias esperadas.

gl. = grados de libertad.

El valor calculado de χ^2 se comparará con el valor tabulado de χ^2 con k – r grados de libertad. La regla de decisión, entonces, es: rechazar H_o si χ^2 calculado es mayor o igual que el valor tabulado de χ^2 para el valor seleccionado de α .

Además, se realizó el Análisis de sensibilidad y especificidad, de los métodos de diagnóstico utilizados mediante la fórmula:

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

$$\text{Especificidad} = \frac{D}{B+D} \times 100$$

Resultados de la Prueba	Resultados Verdaderos	
	Casos o enfermos	Sanos o controles
Positivos	(A)	(B)
Negativos	(C)	(D)
Total	(A + C)	(B+D)

3.2 Operación de la variable

❖ Variables dependientes

- Seroprevalencia de *Brucella spp*, en ganado bovino.

❖ Variables independientes

- Evaluación.
- Identificación.

3.3 Población y muestra de investigación

3.3.1 Población

3.3.1.1 Selección de la finca

La población en estudio estará conformada por Unidades Productivas Agropecuarias (UPAs), dedicadas a la explotación bovina con énfasis a producción de leche tipo familiar, de los cuatros cantones Babahoyo, Baba, Vince, Palenque pertenecientes a la zona sur de la provincia de Los Ríos. La información sobre el número total de UPAs se obtuvo de los datos oficiales del III Censo Nacional Agropecuario (III CNA) levantado en el año 2000.

3.3.1.2 Número de muestras por finca

Basándose en los últimos datos de inmunización para la Fiebre Aftosa, los Ganaderos de los cantones de Babahoyo, Baba, Vinces y Palenque, cuenta con 2354 unidades productivas agropecuarias (AGROCALIDAD, 2023) de las cuales se seleccionarán 66 fincas o 6 unidades de muestreos al azar en base a lo indicado por la OPS-OMS (2002). Lo cual establece que cada unidad de muestreo está conformada por 11 predios o unidades de producción familiar de leche y para lo cual recomienda seleccionar las unidades de muestreo de acuerdo con la cantidad de (UPAs) existentes en un territorio.

3.3.1.3 Tamaño de la muestra.

El total de muestras a ser consideradas es de 66 cada unidad productiva agropecuaria será considerada como unidad de muestreo y estas estarán

distribuidas en los cuatros cantones que son perteneciente a la zona sur de la provincia de Los Ríos.

3.4 Técnica e instrumento de medición

3.4.1 Técnica

Metodología de campo.

Para realizar el trabajo de campo se realizará una visita a cada uno de los cantones y la visita a cada una de las fincas o unidades productivas agropecuarias con énfasis a producción de leche de tipo familiar, se realizará contacto con los propietarios o con el administrador y se concretará una cita para la ejecución del trabajo (fecha y hora) con el objetivo de que tenga conocimiento del respectivo trabajo experimental.

Posterior aquello se levantará una encuesta misma que permitirá tabular información sobre ubicación y datos generales, identificación de la finca y explotación y epidemiológicamente cuáles serán los principales factores de riesgo, que incide en la prevalencia de casos positivos a brucelosis bovina en este segmento de productores lácteos. Posterior se procederá a la toma de muestras de leche entera de las unidades productivas agropecuarias UPAs, una vez tomada la muestra, se procederá debidamente a rotular con el código de muestra, número o nombre de la unidad productiva, posteriormente se colocará en termo con temperatura menor a los 4 °C para su transporte hacia el laboratorio.

Metodología de laboratorio

Prueba de aglutinación Rosa de bengala en leche cruda.

1. Dejar atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (37 °C). La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 µL de la muestra de Leche Cruda a ensayar y 1 gota (50 µL) de cada control en círculos separados de una porta y/o placa de cristal cuadrículada.
3. Mezclar el reactivo vigorosamente antes del ensayo.
4. Añadir una gota (50 µL) de antígeno próxima a la muestra a ensayar.
5. Mezclar con ayuda de un palillo y/o aplicador de madera, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo.

6. Situar la placa de cristal sobre un agitador rotatorio a 80-100 r.p.m., durante 1 minuto.

7. Para la lectura e interpretación de los resultados, se lleva la placa de cristal al aglutinoscopio.

DATO: La lectura e interpretación de resultados de esta prueba, se la puede hacer en el aglutinoscopio y leer con luz indirecta. Todo grado de aglutinación deberá ser considerado como indicio de presencia de anticuerpos en la muestra. Esta es una prueba de tipo cualitativo, de tal manera que los resultados se informan como positivos o negativos.

Resultados de la prueba:

(-) = No hay grumos de aglutinación

(+) = Cualquier grado de aglutinación

3.4.2 Instrumentos

Materiales de Campo

- Leche cruda
- Tubos de falcón
- Gel refrigerante (pilas)
- Termo
- Tablero
- Esferográficos.
- Lápiz
- Hojas de registro para la toma de muestras.
- Guantes
- Etiquetas.
- Mapas.
- Gradillas.
- Vestimentas (overol, botas)
- Cintas Scott
- Fundas plásticas

Materiales de laboratorio

- Refrigeradora

- Centrífuga
- Antígeno Rosa de Bengala
- Reloj
- Puntas para micropipetas
- Gasa
- Alcohol 90 grados
- Micropipeta
- Aglutinoscopio
- Palillos de madera
- Mandil
- Toallas
- Guantes
- Agua destilada
- Detergente
- Mascarilla

Materiales de oficina

- Remas de hojas A4
- Cartucho tintas de color
- Cartucho tintas negra
- Carpetas

3.5 Procesamiento de datos

Para el presente trabajo de investigación se utilizó para evaluar los datos, el Método Porcentual para determinar en porcentaje cuantos casos son positivos o negativos a *Brucella spp*, en bovino de leche en bovinos.

3.6 Aspecto éticos

Los datos que se obtendrán serán legales, confiables y estrictamente apegados a la verdad manejados de normas ética.

CAPITULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Resultados

Resultados de los animales muestreados

En este estudio, se muestrearon 66 fincas dedicadas a la producción de leche de los cantones Baba, Babahoyo, Palenque y Vinces de la provincia de Los Ríos; Una vez terminado el análisis de cada muestra se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1.1 Incidencia de Brucelosis bovina mediante el test de aglutinación de Rosa de Bengala

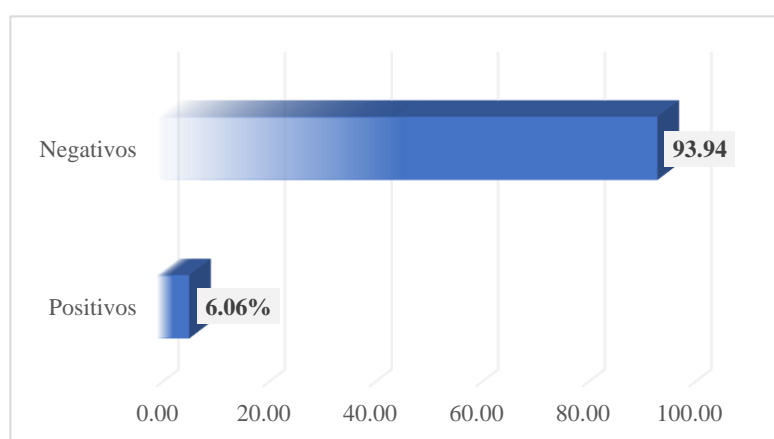
En la tabla 1 se aprecia que, de 66 fincas muestreadas, 4 fueron positivas dándonos una incidencia de la enfermedad de 6,06%.

Tabla 1 Incidencia de Brucelosis Bovina mediante el Test de Rosa de Bengala

Casos	N° Muestra	Incidencia (%)
Positivos	4	6,06
Negativos	62	93,94
Total	66	100

Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

Gráfico 1 Determinación porcentual de incidencia de *Brucella*



Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

4.1.2 Determinación de Brucelosis bovina mediante el test de aglutinación de Rosa de Bengala, de acuerdo a la procedencia

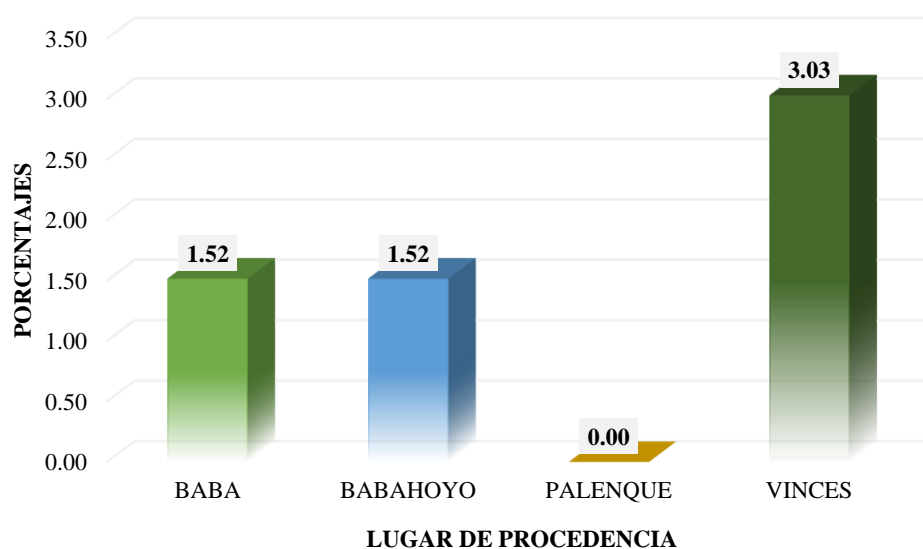
En la tabla 2, se muestra la evaluación de acuerdo a la procedencia, el cantón Vinces presentó el mayor número de casos positivos (2), lo que representó el 3,03 %, seguido de Babahoyo con un caso positivo representando el 1,52 %, Baba con el 1,52 %. Sin embargo, la evaluación estadística mediante la Prueba de Chi Cuadrado determinó que no hay significancia estadística, debido a que, el valor chi cuadrado de la tabla al 5% con 3 grados de libertad es superior al chi cuadrado calculado.

Tabla 2 Incidencia de *Brucella abortus* según la procedencia de las fincas estudiadas

Razas	N° casos	Casos Positivos	Casos Negativos	% Incidencia
Baba	18	1	17	1,52
Babahoyo	11	1	10	1,52
Palenque	14	0	14	0,00
Vinces	23	2	21	3,03
Total, de fincas	66	4	62	6,06

Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

Gráfico 2 Porcentaje de incidencia de *Brucella abortus* según la procedencia



Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

Análisis de pruebas de hipótesis

Cálculo matemático: Chi-Cuadrado

Nivel de Significación: 0.05

Distribución muestral: grados de libertad $gl = (f-1) (c-1)$

Tabla 3 Chi cuadrado: Incidencia de *Brucella abortus* según la procedencia de fincas estudiadas

FRECUENCIA OBSERVADA	DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	PROCEDENCIA				TOTAL
		BABA	BABAHOYO	PALENQUE	VINCES	
	POSITIVOS	1	1	0	2	4
	NEGATIVO	17	10	14	21	62
	TOTAL	18	11	14	23	66

FRECUENCIA ESPERADA	DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	PROCEDENCIA			
		BABA	BABAHOYO	PALENQUE	VINCES
	POSITIVOS	1,09	0,67	0,23	0,38
	NEGATIVO	16,91	10,33	13,15	21,61

DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	PROCEDENCIA			
	BABA	BABAHOYO	PALENQUE	VINCES
POSITIVOS	0,01	0,17	0,23	6,82
NEGATIVO	0,0005	0,0108	0,0547	0,0170

7,31	CHI CUADRADO EXPERIMENTAL
7,81	CHI CUADRADO CRITICO DE TABLA

Nota: Tomado de análisis realizado a bovinos sometidos al estudio, elaborado por Vera Daniela, (2023)

Decisión:

Con un nivel de significancia de 0,05 y 3 grados de libertad se tiene un valor de X^2_t (tabulado): 7,81. Luego del cálculo matemático se obtuvo un valor de X^2_c (calculado): 7,31% con relación a la procedencia que es menor que X^2_t :

Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula que dice: La incidencia de *Brucella abortus* en la zona Sur de la Provincia de los Ríos no está determinada por la procedencia de los animales.

4.1.3 Determinar la distribución porcentual de la *Brucella* spp. en leche en bovinos en la zona sur de la Provincia de Los Ríos, de acuerdo al tipo de explotación

En la tabla 4, se muestra el tipo de explotación de acuerdo a las fincas estudiadas, demostrando que el tipo convencional presentó todos de casos positivos (4), lo que representó el 6,06 %. Sin embargo, la evaluación estadística mediante la Prueba de Chi Cuadrado determinó que no hay significancia

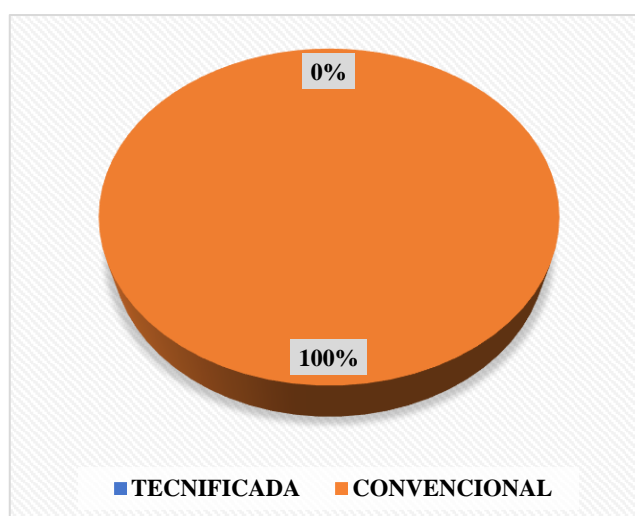
estadística, debido a que, el valor chi cuadrado de la tabla al 5% con 3 grados de libertad es superior al chi cuadrado calculado.

Tabla 4 Incidencia de *Brucella abortus* según el tipo de explotaciones ganaderas

Explotaciones	N° casos	Casos Positivos	Casos Negativos	% Incidencia
Tecnificada	13	0	13	0,00
Convencional	53	4	49	6,06
Total	66	4	62	6,06

Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

Gráfico 2 Porcentaje de incidencia de *Brucella abortus* según el tipo de explotaciones



Elaborado por: Vera, Daniela (2023)

Análisis de pruebas de hipótesis

Cálculo matemático: Chi-Cuadrado

Nivel de Significación: 0.05

Distribución muestral: grados de libertad $gl = (f-1) (c-1)$

Tabla 5 Chi cuadrado: Incidencia de *Brucella abortus* según el tipo de explotaciones

FRECUENCIA OBSERVADA	DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	TIPO DE EXPLOTACION		TOTAL
		TECNIFICADA	CONVENCIONAL	
	POSITIVOS	0	4	4
	NEGATIVO	13	49	62
	TOTAL	13	53	66

FRECUENCIA ESPERADA	DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	TIPO DE EXPLOTACION	
		TECNIFICADA	CONVENCIONAL

POSITIVOS	0,79	3,21
NEGATIVO	12,21	49,79

DIAGNÓSTICO BRUCELOSIS	TIPO DE EXPLOTACION	
	TECNIFICADA	CONVENCIONAL
POSITIVOS	0,79	0,19
NEGATIVO	0,0508	0,0125

1,04	CHI CUADRADO EXPERIMENTAL
3,84	CHI CUADRADO CRITICO DE TABLA

Nota: Tomado de análisis realizado a bovinos sometidos al estudio, elaborado por Vera Daniela, (2023)

Decisión:

Con un nivel de significancia de 0,05 y 1 grado de libertad se tiene un valor de X^2_t (tabulado): 3,84. Luego del cálculo matemático se obtuvo un valor de X^2_c (calculado): 1,04% con relación a la procedencia que es menor que X^2_t : Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula.

4.2 Discusión

En el presente trabajo de investigación en la se busca establecer la incidencia de brucelosis en la Zona Sur de la Provincia de Los Ríos de la Determinación de *brucella spp*, considerando la cantidad de muestras aproximadamente de 66 fincas productora de leche la cual no arrojó una incidencia de 6,06% que pertenecen a casos positivos, mientras que el restante de la incidencia es de 93,94 % que pertenecen a casos negativos. Estos datos difieren con los autores (Armijo, Martínez, 2022) en donde se detallan los resultados de la técnica molecular PCR en muestras de leche de animales seropositivos. De las 59 vacas seropositivas a Rosa de bengala y ELISA, se obtuvo en este estudio 16 animales positivos (27,11%) mediante la aplicación de PCR como herramienta de detección. A partir de los resultados expuestos, se calcularon las probabilidades de concordancia entre los métodos serológicos y la PCR mediante la aplicación de la probabilidad condicional en el software R.

(Mainato y Vallecillo (2017), en su trabajo de investigación los valores de prevalencia obtenidos en este estudio (8,5%) son menores a los encontrados por en la provincia vecina del Cañar (13,63%), donde refieren una mayor presencia de fincas seropositivas en los cantones de Biblián y Cañar. Un estudio epidemiológico de Brucelosis a nivel nacional (Carbonero y col., 2018) incluye a la provincia del Azuay con una prevalencia a nivel de rebaño menor al 10%; Pichincha 37,5%; Santo Domingo 26,8%; Tungurahua 25,3% y Zamora con 4,8%. Por otro lado, (Poulsen y col. (2014)), en un estudio para determinar la prevalencia en dos provincias del Norte del Ecuador, refieren un valor de 7,2%. Estas variaciones a nivel país podrían deberse a las técnicas de muestreo, interpretación de las pruebas, reactivos utilizados, número de animales muestreados.

CAPITULO V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Habiendo culminado la investigación de Determinación de *Brucella spp.* en leche en hatos ganaderos en zona sur de la Provincia de Los Ríos podemos concluir que:

Del total de 66 fincas productoras de leche muestreadas solo 4 casos resultaron positivos de brucelosis, arrojando una incidencia de la enfermedad de 6,06%.

Según la procedencia de las fincas estudiadas el cantón Vinces presento el mayor número de casos positivos con 2 de *brucella abortus*, lo que represento el 3,03 % seguido de Babahoyo con un caso positivo representando el 1,52 %, Baba con el 1,52 %, cabe mencionar que la variable de procedencia no es una determinante en el diagnostico positivo de brucelosis.

Según el tipo de explotaciones ganaderas la incidencia de *Brucella abortus* solo 13 de las fincas muestreadas tienen un sistema de manejo tecnificado y 53 de las fincas estudiadas se manejan de modo convencional, se presentando los 4 casos positivos de *Brucella abortus*, lo que representó el 6,06 %.

5.2 Recomendaciones

Considerando los resultados obtenidos en la investigación se puede hacer las siguientes recomendaciones:

- Se debe realizar un seguimiento de los casos positivos en los estudios para identificar intervenciones relevantes, además utilizar pruebas adicionales para confirmar diagnóstico; tales como la prueba de Elisa competitivo y pruebas de PCR.
- Conociendo mediante los resultados que no se detectaron casos positivos en el cantón Palenque, se recomienda mantener las medidas preventivas y continuar con la vigilancia de cerca de esta enfermedad para evitar futuros casos positivos de brucelosis.
- Realizar capacitaciones a los ganaderos de los Ríos y dar atención necesaria en temas de enfermedades en bovinos para evitar posteriores contagios y pérdidas en la producción de leche de la zona.
- Dado que los casos positivos se dieron en los predios con manejo convencional, se recomienda hacer un seguimiento detallado en estos predios para determinar y corregir los posibles factores que producen riesgo.
- Utilizar las pruebas adicionales como Rosa de Bengala, Elisa I, Elisa C, Prueba de Fluorescencia Polarizada, PCR.
- Tomar las medidas preventivas más adecuadas para poder llegar a mantener la zona con niveles bajos de infección

REFERENCIAS

- Agrocalidad . (2016). *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Obtenido de Resolución 0131: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/resolucion-0131.pdf>
- Aguayo, M., Pérez, M., & Rodríguez. (2016). *Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo*. Revista de investigación veterinaria de Perú. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000300022
- Alba Solano, J. (2022). *Brucelosis bovina*. Cochabamba. Recuperado el 14 de Agosto de 2023, de [http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/bitstream/123456789/27779/1/BRUC ELOSIS%20BOVINA%20EN%20LA%20CUENCA%20LECHERA%20DEL %20DISTRITO%209%20DE%20COCHABAMBA%20Jhonny%20Alba%20 Salano.pdf](http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/bitstream/123456789/27779/1/BRUC%20ELOSIS%20BOVINA%20EN%20LA%20CUENCA%20LECHERA%20DEL%20DISTRITO%209%20DE%20COCHABAMBA%20Jhonny%20Alba%20Salano.pdf)
- Álvarez, H., & Díaz, F. M. (2015). *Brucelosis, una zoonosis frecuente*. Revista de Medicina e Investigación. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-brucelosis-una-zoonosis-frecuente-S2214310615000382>
- Ariza, J. (2023). *Brucelosis: Aspectos actuales de principal interés*. Control Calidad Seimc. Recuperado el 25 de Agosto de 2023, de [https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/brumcli .pdf](https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/brumcli.pdf)
- Armijos Martínez, N. A. (2022). *Detección molecular de Brucella spp. en leche de vacas*. Quito.
- Baily, G., Krahn, J., Drasar, B., & Stoker. (1992). *Detection of brucella melitensis and brucella abortus by DNA amplification*. Journal of tropical Medicine and Hygiene. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de https://www.researchgate.net/profile/Neil-Stoker-3/publication/21660844_Detection_of_Brucella_melitensis_and_Brucella_abortus_by_DNA_amplification/links/0deec51f78ca56e366000000/Detection-of-Brucella-melitensis-and-Brucella-abortus-by-DNA-amplification.pdf

- Baruch, J. (2016). *Uso de la técnica Elisa Indirecto en muestras compuestas de suero para la vigilancia de brucelosis Bovina*. Montevideo: Universidad de la República Uruguay. Recuperado el 1 de Septiembre de 2023, de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10327/1/FV-32515.pdf>
- Bernett, C. (1976). *Serología Clínica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Borie, C., & Galarza, N. (2015). *Brucella Canis*. Revista Chilena. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182015000300011&script=sci_arttext
- Byndloss, M., & Tsolis, R. (2016). *Brucella spp. Virulence Factors and Immunity*. Further. Recuperado el 13 de Agosto de 2023, de <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-animal-021815-111326>
- Calderón, J., Bulnes, C., Zambrano, M., Delgado, M., De la cruz, L., & Rezabala, P. (2019). *Seroprevalencia de brucelosis bovina y su relación con el aborto, en edad reproductiva en el cantón El Carmen, provincia Manabí, Ecuador*. Revista de las Agrociencias. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7018039>
- Cameron, H., & Meyer, M. (1958). *Metabolic Studies on Brucella Neotomae*. School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California. Recuperado el 02 de Agosto de 2023, de <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.76.5.546-548.1958>
- Candela, C. A. (2023). *Prevalencia de Brucelosis (Brucella Abortus) en los Hatos Bovinos del Isla Puna*.
- CARDENAS, Z. (2018). BRUCELOSIS BOVINA Y SUS FACTORES DE RIESGO EVALUACION A NIVEL MUNDIAL. 55. Recuperado el 31 de Agosto de 2023, de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/461075/zlcc1de1.pdf?sequence=1>
- Castro, A., Gonzales, S., & Prat, I. (junio de 2005). *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. Obtenido de Brucelosis: una revisión práctica: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572005000200008&script=sci_arttext

- CDFA. (Septiembre de 2021). *Brucelosis Bovina* . Obtenido de California Department of food and agriculture: https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/animal_health/pdfs/brucellosis/BovineBruceOutreach_Spanish.pdf
- Cevallos, O. (2013). *Incidencia de Brucelosis Caprina (Brucella Melitensis) en hatos ganaderos de los Cantones (Isidro Ayora, Lomas De Sargentillo y Pedro Carbo), Provincia del Guayas*. UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/9bcb4d04-5cb9-4345-a178-042c49219dd3/content>
- Cortes, L., Diaz, E., Vazques, J., & Ontiveros, L. (2018). *COMPARACION DE TRES CEPAS DE Brucefla melitensis PARA LA OBTENCION DE ANTIGENO POLISACARIDO-B, UTILIZADO EN EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS BOVINA*. Recuperado el 24 de Agosto de 2024, de <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/3454/2874>
- Crúz, S. (2023). *PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA PRODUCCIÓN LACTEA DE LA*. 14. Obtenido de <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/7641/11591>
- Davidson, N., Muchowski, J., & Dagleish, M. (2021). *Neurobrucellosis due to brucella ceti ST26 in three Sowerby's beaked whales*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021997520301407>
- Díaz, R., & Moriyón, I. (2019). *Laboratory techniques in the diagnosis of human brucellosis*. *Brucellosis: Clinical and laboratory aspects*. Recuperado el 25 de agosto de 2023, de [cbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6860005/#:~:text=The%20clinical%20presentation%20of%20brucellosis,and%20nucleic%20acid%20amplification%20assays](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6860005/#:~:text=The%20clinical%20presentation%20of%20brucellosis,and%20nucleic%20acid%20amplification%20assays).
- DÍAZ, S. V. (2018). *FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA DISEMINACION DE BRUCELOSIS A LOS HUMANOS EN UNIDADES PROCESADORAS DE LECHE Y MATADEROS DE LA ZONA CENTRO NORTE DE LA PROVINCIA DE MANABI*. 19. Obtenido de <http://repositorio.utm.edu.ec/items/18426aff-d3f8-4a1c-8b5b-56d4262cd2ee>

- Diego vergara collazos, m. f. (2008). *PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA LECHE CRUDA DE BOVINOS*. Mexico. Recuperado el 01 de Septiembre de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a10.pdf>
- Dra. Natalia Casas, D. N. (s.f.). *Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación*. Obtenido de <https://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000000525cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
- Espinosa, J. (2023). *Evaluación de la cinética de anticuerpos IgG e IgM mediante pruebas serológicas ELISAi y aglutinación, en bovinos experimentalmente infectados con una cepa nativa de Trypanosoma vivax y tratados con diacetato de diminazeno, dipropionato de imidocarb*. Universidad de las fuerzas armadas. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/36659/1/T-ESPE-052891.pdf>
- Evangelista, T. B. R., et al. (2005). *Brucelosis bovinos de leche*. Mexico. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342015000600010
- Gob mx. (04 de Octubre de 2021). *Prevención de la Brucella melitensis en ganado ovino y caprino*. Obtenido de Gobierno de México : <https://www.gob.mx/pronabive/articulos/prevencion-de-la-brucella-melitensis-en-ganado-ovino-y-caprino>
- Guzmán, R. L., Contreras, A., Ávila, E. D., & Morales, M. R. (2016). Brucelosis: zoonosis de importancia en México Brucelosis: a zoonosis of importance in México. *Scielo*, 6, 33. Retrieved from <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n6/art07.pdf>.
- INAMHI. (2023). *Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología*.
- INSST. (25 de Octubre de 2021). *Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo*. Obtenido de Brucella melitensis: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/brucella-melitensis#:~:text=Brucella%20melitensis%20pertenece%20a%20la,c%C3%A1psulas%20y%20de%20crecimiento%20lento>
- J. LOPEZ, M. M., A. BEST, M., & MORALES, C. (s.f.). Diagnóstico de brucelosis bovina en leche por el ring test y elisa. Recuperado el 01 de Octubre de 2023, de https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000100015

- Jimenez Pacheco, Z. R. (2012). Determinación del índice de brucelosis en fincas lecheras de pequeños y medianos productores en el cantón Pasaje, El Oro. 17. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16128>
- Landis, M., & Rogovskyy, A. (2022). *El caso breve: Infección por Brucella suis en una casa de perros*. Revista de microbiología clínica. Recuperado el 17 de Agosto de 2023, de <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/jcm.00984-21>
- Lopez J. & Best. (1998). *Diagnostico de brucelosis bovina de leche*. Chile. Obtenido de https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Maldonado, J., Kowalski, A., Milla, M., Rodriguez, M., & Villasmil, C. (2010). *Implementación de la prueba del anillo en leche y elisa indirecto para el diagnóstico de brucelosis en rebaños doble propósito del estado Lara, Venezuela*. Venezuela: Revista Científica. Recuperado el 1 de Septiembre de 2023, de https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-22592010000300004&script=sci_arttext
- Marina Dalila Zambrano Aguayo, M. P. (2014). Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo. Recuperado el 01 de Octubre de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000300022
- Marina Zambrano, ,. M. (julio de 2016). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000300022
- MEDINA, J. E. (2016). *DETERMINACIÓN DE LA TASA DE PREVALENCIA DE (Brucella spp.) en pillaro*. Ambato. Recuperado el 01 de Septiembre de 2023, de repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24393/1/Tesis%2072%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20445.pdf
- Mejia, H. (2023). "Incidencia de Brucelosis bovina (Brucella abortus) en el cantón mocache. 19. Recuperado el 31 de Agosto de 2023, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13896/TE-UTB-FACIAG-MVZ-000029.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Mendez Lozano M., et al. (2015). *brucelosis bovina*. Mexico. Obtenido de <https://www.scielosp.org/pdf/spm/v57n6/v57n6a10.pdf>
- Morata, P., Queipo, M., Reguera, J., Garcia, M., Pichardo, C., & Colmenero, J. (2018). *Posttreatment follow-up of brucellosis by PCR assay*. Clin Microbiol.
- Navarro, A., Betton, J. T., Cuello, J., Viciano, P., & LópezL, e. a. (1984). *Utilidad del test de inmunofluorescencia indirecta y la prueba de la «rosa de Bengala» en el diagnóstico de la brucelosis*. Revista clinica de España.
- Neppan, M. M. (2013). *Prevalencia de brucelosis bovina mediante tecnica de anillo de leche , rosa de bengala,ring test*. Quito.
- OMS. (31 de Diciembre de 2022). *Brucelosis* . Obtenido de Organización Mundial de la Salud : <https://www.woah.org/es/enfermedad/brucelosis/>
- Ordoñez, G. (2018). *Determinación de los métodos de diagnóstico del perfil reproductivo en bovinos: revisión*. Revista de Investigación Talentos veterinaria. Recuperado el 30 de Agosto de 2023, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8551242>
- Organizacion Mundial de la Salud animal. (2023). *brucelosis* . Obtenido de enfermedades: <https://www.woah.org/es/enfermedad/brucelosis/#:~:text=En%201897%2C%20el%20Dr.,personas%20una%20grave%20enfermedad%20debilitante.>
- Ortega, H. D. (2023). "Incidencia de Brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en el cantón. 32. Recuperado el 02 de Octubre de 2023, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13896/TE-UTB-FACIAG-MVZ-000029.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pacheco, R. (2013). Incidencia de Brucelosis Caprina (*Brucella Melitensis*) en hatos ganaderos de los Cantones Isidro ayora,Loma de Sargentillo Provincia del Guayas. 19-20. Obtenido de [https://www.google.com/search?q=Incidencia+de+Brucelosis+Caprina+\(Brucella+Melitensis\)+en+hatos+ganaderos+de+los+Cantones+Isidro+ayora%2CLoma+de+Sargentillo+Provincia+del+Guayas&oq=Incidencia+de+Brucelosis+Caprina+\(Brucella+Melitensis\)+en+hatos+ganaderos](https://www.google.com/search?q=Incidencia+de+Brucelosis+Caprina+(Brucella+Melitensis)+en+hatos+ganaderos+de+los+Cantones+Isidro+ayora%2CLoma+de+Sargentillo+Provincia+del+Guayas&oq=Incidencia+de+Brucelosis+Caprina+(Brucella+Melitensis)+en+hatos+ganaderos)
- Poulsen, K., Hutchins, F., McNulty, C., Tremblay, M., C, Z., Barragan, V., . . . Bethe, J. (2014). *Brucellosis in dairy cattle and goats in northern Ecuador*. . Am J Trop Med Hyg.

- Refai, M. (2023). *Incidencia y control de la brucelosis en la región del Cercano Oriente*. ScienceDirect. Recuperado el 13 de Agosto de 2023, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113502002481?via%3Dihub>
- Reyes, J., Sánchez, M., Microb, M., Restrepo, M., & Palacio, L. (2010). *Seroprevalencia e incidencia de Brucella sp en vacunadores del Programa para el control de brucelosis bovina, en el Departamento de Antioquia-Colombia*. Antioquia. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902010000100005&script=sci_arttext
- Richar Rodriguez Hidalgo, e. a. (30 de Junio de 2015). *Frontiers in Public Health*. Recuperado el 01 de Septiembre de 2023, de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2015.00045/full>
- Rivers, R., Andrews, E., Gonzales, A., Donoso, G., & Oñate, A. (2006). *Brucella abortus: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos*. Scielo. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2006000100002&script=sci_arttext
- Ródai, Z., Dán, A., & Gyuraneez, M. (2015). *Primer Aislamiento y Caracterización de Brucella microti de jabalí*. Investigacion veterinaria BMC. Obtenido de <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-015-0456-z>
- Rolón, B. (2020). *eroprevalencia de brucella abortusen bovinos de establecimientosde pequeños productores lecheros de la colonia nueva alianza,yasy cañy, Paraguay 2020*. Revista de epidemiologia y ciencias socciales Mexico. Obtenido de <https://revistaaxenthos.org/index.php/Axenthos/article/view/8/15>
- Samartino, L. (2016). *Bucelosis Bovina*. Uruguay. Obtenido de https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/1340/JB2016_30-34.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Sánchez-Jiménez, M. M., Giraldo-Echeverri, & Olivera-Angel, M. (2013). *Infección por Brucella canis en humanos: propuesta de un modelo teórico de infección a través de la ruta oral*. Infecto. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939213707318>

- Secretaria de la Salud. (2012). *Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiologica de brucelosis*. Direccion general de epidemiologia. Recuperado el 15 de Agosto de 2023, de https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/03_Manual_Brucelosis.pdf
- SNCSA. (15 de Junio de 2023). *Brucelosis Bovina* . Obtenido de Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal : <https://www.senacsa.gov.py/index.php/Temas-pecuarios/sanidad-animal/programas-sanitarios/brucelosis-bovina>
- Tsolis, M. X. (febrero de 2016). *Revisión anual de biociencias animales*. Obtenido de <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-animal-021815-111326>
- Vera Ganchozo, R. D. (2013). Incidencia de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en el cantón Pichincha, Provincia de Manabí. 21. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371847509022.pdf>
- vergara, D. (7 de ABRIL de 2008). Recuperado el 01 de Septiembre de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a10.pdf>
- Villalobos, J., Barquero, E., Rojas, C. C., Chaves, E., & Moreno, E. (2017). *Brucellosis caused by the wood rat pathogen Brucella motomae: two case report* . Springer Link. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1186/s13256-017-1496-8>
- Villanueva, M., & Velásquez, D. (2006). *Estudio epidemiológico de la prevalencia de Brucelosis Equina en el Municipio de San Pedro de Lóvago Departamento de Chontales*. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. Recuperado el 30 de Agosto de 2023, de <https://repositorio.una.edu.ni/1331/1/tnl73v718.pdf>
- Villaverde, C. (2017). Diagnóstico y tratamiento de las reacciones adversas al alimento en.
- Viquez, E. (2020). *Detección de la infección por Brucella ceti en cetáceos mediante PCR-Alta Resolución de Fusión: pautas para el manejo de delfines encallados*. Heredia: Universidad Nacional. Obtenido de <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/18840/Trabajo%20Final%20Pasant%c3%ada%20Eunice%20%20Viquez%20Ruiz.%20Oct%202020.docx.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Wareth, G., El - Diasty, M., Abdel, N., Holzer, K., Hamdy, M., & Moustafa, S. (2021). *Molecular characterization and antimicrobial susceptibility testing of clinical and non-clinical Brucella melitensis and Brucella abortus isolates from Egypt*. Elsevier. Recuperado el 24 de Agosto de 2023, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771421000458>
- Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., & Tenover, G. (2008). *Koneman diagnostico microbiologico: textos y atlas a color*. Buenos Aires: Editorial médica Panamericana.
- Zambrano Aguayo ., et al. (2016). *Brucelosis Bovina*. Ecuador. Recuperado el 14 de Agosto de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000300022

ANEXOS



Figura 1. Materiales para realizar el muestreo de brucella spp en leche cruda.



Figura 2. Utilizando la micropipetas para recolectar 30 micra de leche.

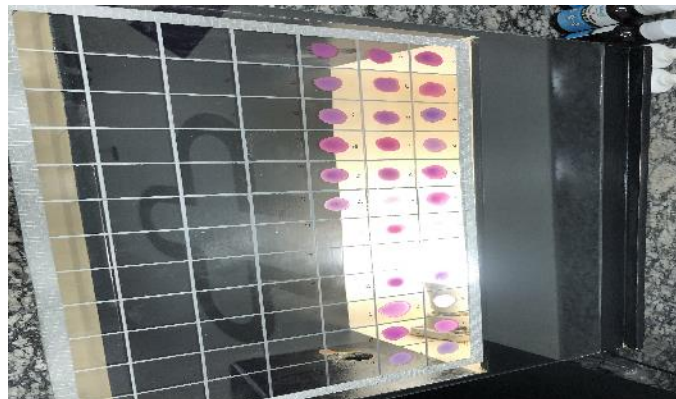


Figura 3. Observando los resultados en la placa de aglutinoscopio que si dan positivos o negativos

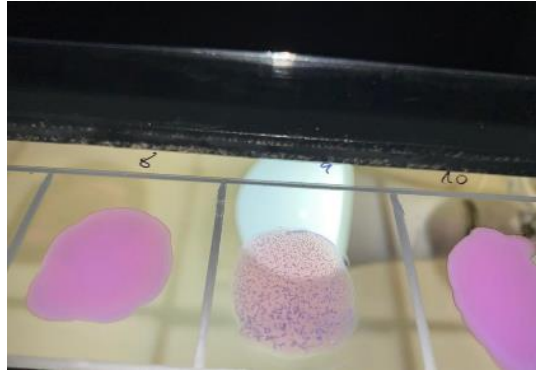


Figura 4. Caso positivo



Figura 5. Visita de mi tutor en unos de los predios



Figura 6. Visita de mi tutor y coordinadora de titulación

DETERMINACION DE *BRUCELLA SPP* EN LECHE EN LA ZONA SUR DE LA PROVINCIA DE LOS RÍOS

N° DE MUESTRA	NOMBRE DE FINCAS	RAZAS DE VACAS	LUGAR DE PROCEDENCIA	TIPO DE EXPLOTACION	DIAGNOSTICO		MUESTRA
					POSITIVO	NEGATIVO	LECHE CRUDA
1	SAN ANTONIO	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
2	SAN ANTONIO	BROWN SWISS	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
3	MANTUANO	JERSEY	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
4	PRADOS	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
5	LOS PRADOS	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
6	JUAN CARLOS MARIDUEÑA	MESTIZA	BABA	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
7	ALFREDO VERA	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
8	LOS ALMACHES	HOLSTEIN	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
9	HERRERA	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL	1		LECHE CRUDA (15 ml)
10	EDWIN GAVILANEZ	BROWN SWISS	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
11	GUSTIAN MOREIRA	MESTIZA	BABA	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
12	JUNIOR CASTRO	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
13	DELIA	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
14	RIZZO	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
15	EL MIRADOR	HOLSTEIN	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
16	SAN JAVIER	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL	1		LECHE CRUDA (15 ml)
17	SAN GERARDO	MESTIZA	VINCES	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
18	4 HERMANOS	BROWN SWISS	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
19	MIRAFLORES	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
20	LAS AMERICAS	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
21	PROLACVIN	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
22	SANTA CLARA	MESTIZA	VINCES	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
23	LAS ESTRELLAS	JERSEY	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
24	LA PRIMAVERA	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
25	LA ESTRELLADA 2	MESTIZA	VINCES	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
26	LOS TAMARINDOS	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
27	SAN FELIPE	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL	1		LECHE CRUDA (15 ml)
28	DON OLIMPO	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
29	MIRAFLORES 2	MESTIZA	VINCES	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
30	SAN JOSE	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
31	PEDRO CAICEDO	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
32	SAN PABLO	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
33	LAS MERCEDES	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
34	ASTOLFO MORAN	HOLSTEIN	BABAHOYO	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
35	NAVARRO	MESTIZA	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
36	CLEVER VERA	BROWN SWISS	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
37	ALBERTO MOYANO	MESTIZA	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
38	RANCHO SAN JOSE	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
39	HUGO CHICHANDE	JERSEY	BABAHOYO	CONVENCIONAL	1		LECHE CRUDA (15 ml)
40	GUSTAVO VERA	MESTIZA	BABAHOYO	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
41	SIMON	MESTIZA	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
42	JANETH SIPION	MESTIZA	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
43	VARGAS	MESTIZA	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
44	CARLOS SANCHEZ	MESTIZA	BABAHOYO	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
45	LA LEGUA	BROWN SWISS	BABAHOYO	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
46	EL ROSARIO	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
47	DALITA	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
48	EL PALMAR	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
49	LAS VILLAS	HOLSTEIN	PALENQUE	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
50	SAN LUIS	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
51	SAN MIGUEL	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
52	EL JARDIN	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
53	SAN JORGE	MESTIZA	PALENQUE	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
54	LA LIBERTAD	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
55	RECINTO PISE	HOLSTEIN	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
56	EL REFLEJO	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
57	HERNANDO MENDEZ	MESTIZA	PALENQUE	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
58	EL MAMEY	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
59	EL CAIRO	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
60	LA MALINCHE	MESTIZA	PALENQUE	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
61	LOS LLANOS	MESTIZA	BABA	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
62	HEIDI MARIA	MESTIZA	BABA	TECNIFICADA		1	LECHE CRUDA (15 ml)
63	JESUCITA	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
64	EXIGENCIA	HOLSTEIN	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
65	LA ENVIDIA	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)
66	TRES HERMANOS	MESTIZA	VINCES	CONVENCIONAL		1	LECHE CRUDA (15 ml)