



RESUMEN

TÍTULO: “PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL CANTÓN LIMÓN INDANZA PROVINCIA MORONA SANTIAGO”

La investigación se efectuó en las parroquias del cantón Limón Indanza, muestreando 35 fincas ganaderas seleccionadas al azar; en cada una se tomaron 7 muestras sanguíneas, de 5 hembras y 2 machos mayores a 1 año, dando un total de 245 bovinos. El método de campo comprendió la extracción de sangre de la vena yugular directamente en tubos “vacutainer”, almacenados en termos refrigerantes para transportarlos, previa rotulación de datos. En el laboratorio del Hospital Básico de Limón Área 3 se centrifugó, obteniendo el suero sanguíneo. La aplicación de las pruebas se realizó en los laboratorios veterinarios de Agrocalidad (Quito-Tumbaco), utilizándose Rosa de Bengala como prueba tamiz; a los casos positivos y sospechosos se les aplicó ELISA de competencia como prueba confirmatoria. No se presentaron casos positivos por lo tanto se obtuvo una prevalencia del 0%. Así se



demostró que la brucelosis bovina ha disminuido en el cantón con respecto al año 1988, en la que la prevalencia fue del 0,22% según Castro R. Edgar y Zhunio L. René. Esto podría deberse a que no hay vacunación contra brucelosis, la reproducción es casi exclusivamente mediante monta natural, la movilización de ganado de otras provincias o cantones no es muy notable, ya que los animales de reemplazo se adquieren dentro del mismo cantón.

PALABRAS CLAVES: Brucelosis bovina, Brucella abortus, bovinos, Limón Indanza, Rosa de Bengala, ELISA de competencia, aborto, placentitis.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	10
2. REVISION DE LITERATURA	15
2.1. BRUCELOSIS BOVINA	15
2.1.1. HISTORIA	15
2.1.2. SINONIMIA	19
2.1.3. ETIOLOGIA.....	20



2.1.3.1. Morfología y caracteres estructurales	20
2.1.3.2. Inmunógenos	22
2.1.3.3. Eritrol como ventaja	23
2.1.4. RESISTENCIA	24
2.1.5. TAXONOMIA	25
2.1.6. EPIDEMIOLOGÍA	30
2.1.6.1. Distribución geográfica.....	31
2.1.6.2. Reservorios naturales	33
2.1.6.3. Transmisión.....	35
2.1.6.4. Difusión y permanencia de la enfermedad en el rebaño	40
2.1.7. PATOGENIA	41
2.1.7.1. Vacas no preñadas	46
2.1.7.2. Vacas preñadas	47
2.1.7.3. Feto	48
2.1.7.4. Machos.....	49
2.1.8. SIGNOS CLINICOS	51
2.1.9. HALLAZGOS DE NECROPSIA	53
2.1.10. INMUNIDAD FRENTE A BRUCELA.....	55
2.1.10.1. Inmunidad natural/innata	56
2.1.10.1.1. Células efectoras de la inmunidad innata	56
2.1.10.1.2. Inducción de la Respuesta Inmune	
Humoral.	61
2.1.10.2. Respuesta Inmune Específica/adaptativa	61
2.1.10.2.1. Inmunidad de base humoral	63
2.1.10.2.2. Inmunoglobulinas	64
2.1.10.3. Antígenos de Brucella	67



2.1.11.DIAGNÓSTICO	71
2.1.12.TRATAMIENTO	82
2.1.13.CONTROL Y ERRADICACIÓN.	83
2.1.13.1.Cuarentena.....	85
2.1.13.2.Estrategia Nacional en el Ecuador	85
2.1.13.3.Vacunas	88
2.1.13.3.1.Características de la Cepa RB51	88
2.1.13.3.2.Brucella abortus S19.....	89
2.1.13.3.3.Brucella abortus 45/20	91
2.1.13.3.4.Brucella abortus RB51-SOD	92
2.1.13.3.5.Vacunas ADN	93
2.1.13.3.6.Vacunas ARN	94
2.1.13.3.7.Características de las cepas vacunales..	95
2.2. BRUCELOSIS EN HUMANOS	96
2.2.1. Transmisión	97
2.2.2. Cuadro clínico	98
2.2.3. Diagnóstico	100
2.2.4. Tratamiento	102
2.2.5.Arma Biológica y desarrollo de vacuna humana	102
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	108
3.1. Materiales	108
3.1.1. Materiales de campo.....	108
3.1.2. Materiales de Laboratorio	109
3.1.3. Materiales de escritorio	114
3.2. Métodos	115
3.2.1. El área de estudio	115



3.2.2. Metodología para la investigación experimental	116
3.2.3. Método de campo	116
3.2.4. Método de laboratorio	117
3.2.4.1. Rosa de Bengala.....	118
3.2.4.2. Elisa de competición	121
3.2.5. Método estadístico	129
3.2.5.1. Población	129
3.2.5.2. Muestra	129
3.2.5.3. Diseño Experimental	130
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	135
5. CONCLUSIONES	141
6. RECOMENDACIONES.....	143
7. RESUMEN	145
8. SUMMARY	148
9. BIBLIOGRAFÍA	150
10. ANEXOS.....	160



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

VERÓNICA XIMENA CABRERA TENECELA Y MARCELO RAMIRO CÁRDENAS PELÁEZ, reconocemos y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de **MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Verónica X. Cabrera T.
1400755870

Marcelo R. Cárdenas P.
1400508659

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

VERÓNICA XIMENA CABRERA TENECELA Y MARCELO RAMIRO CÁRDENAS PELÁEZ,
certificamos que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente
investigación son de exclusiva responsabilidad de su autores.

Verónica X. Cabrera T.
140075587

Marcelo R. Cárdenas P.
1400755870

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



NOTA DE ACEPTACION

Aprobado por el tribunal de tesis de grado en cumplimiento con los requisitos exigidos por la Universidad de Cuenca para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista.

Dr. Galo Guzmán
Presidente del Tribunal de Tesis

Dr. Manuel Soria
Miembro del Tribunal de Tesis

Dr. Félix Chusán
Miembro del Tribunal de Tesis

Cuenca, 18 de Marzo de 2012



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL
CANTÓN LIMÓN INDANZA PROVINCIA MORONA
SANTIAGO”**

Tesis previa a la
obtención del título de
“Médico Veterinario
Zootecnista”

AUTORES:

Srta. Verónica Ximena Cabrera Tenecela
Sr. Marcelo Ramiro Cárdenas Peláez

DIRECTOR:

Dr. Carlos Vaca Vaca. Mg. Sc.

2012 –2013



1. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una antropozoonosis de mayor distribución en el mundo, causada por una bacteria Gram negativa. La *Brucella* es un parásito intracelular "facultativo" que, como tal, puede vivir dentro y fuera de la célula y acompañar al animal infectado durante toda su vida. (38)

Del Género *Brucella* están descritas ocho biovariedades (posiblemente nueve con la próxima aceptación por parte del Subcomité internacional de taxonomía de *Brucella microti*). Entre ellas *B. melitensis* es la más invasiva y que afecta principalmente al hombre y a pequeños rumiantes seguida de otras especies identificadas como son *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis* y más recientemente serotipos que infectan a mamíferos marinos. (24)

El aborto, la epididimitis y vesiculitis, el nacimiento de terneros débiles, la merma en la producción de leche, la infertilidad y subfertilidad en vacas y toros son las características más importantes de la enfermedad. (23) En



los humanos ocasiona la enfermedad conocida como fiebre ondulante o fiebre de Malta.

Esta enfermedad es de gran importancia en la actualidad ya que crea preocupación por su impacto en la salud pública y en la economía. Representa un riesgo ocupacional a las personas involucradas en la manipulación de los animales contaminados ya que se pueden contagiar por contacto directo con los tejidos, sangre, orina, fetos abortados, líquidos fetales y placenta, algunas veces por inoculación accidental con la vacuna cepa 19, así como también por el consumo de sus derivados (leche, carne cruda y productos lácteos no pasteurizados). Generando pérdida económica en el sector pecuario, por la disminución en la producción de carne como consecuencia de los abortos, nacimientos de crías débiles, muerte perinatal de terneros, menor producción de leche, disminución de la fertilidad, esterilidad etc., repercutiendo en las relaciones comerciales exteriores debido a las restricciones que provoca la enfermedad.

La brucelosis tiene una distribución mundial tanto para los animales como para humanos no se tiene una cifra real de



incidencia, pero se sabe que la prevalencia más alta se registra en los países en vías de desarrollo. En algunos países ha desaparecido gracias a programas nacionales de erradicación. Según investigaciones de Agrocalidad en el Ecuador el nivel de prevalencia en el año de 2008 fue de 1.54% (40)

Se realizó una investigación con el objetivo de establecer la seroprevalencia de Brucelosis en el cantón Limón Indanza el cual es un sector muy importante en la producción bovina de la amazonia, de esta manera se contribuye a establecer si existe un incremento o disminución de brucelosis con respecto al año 1988 que es cuando se realizó una tesis similar en el cantón en la que se obtuvo una prevalencia de 0.22% según de Castro R. Edgar y Zhunio L. René.¹

En el estudio se tomaron 245 muestras de suero sanguíneo de bovinos, en 35 fincas distribuidas en las distintas

¹Castro R. Edgar, Zhunio L. René. Prevalencia de brucelosis bovina por los métodos de seroaglutinación en placa y card test en el Cantón Limón-Indanza. [Tesis de grado]. Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias; 1988



parroquias del cantón de una forma aleatoria proporcional. De cada finca se tomó 5 muestras de hembras y 2 de machos que estaban en edades reproductivas con sus respectivos datos. Estas muestras fueron trasladadas hasta el laboratorio bajo las medidas de conservación y en el tiempo requerido para evitar el deterioro de las muestras serológicas. Las pruebas a las que se sometieron estos sueros fueron Rosa de Bengala, a los reactores positivos se realizaron Elisa de competencia para el diagnóstico de Brucelosis, las mismas que se efectuaron en los laboratorios de Agrocalidad, en la ciudad de Quito los mismos que brindaron ayuda e información para su ejecución.

El objetivo general trazado para esta investigación fue el estudio de la prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Limón Indanza, utilizando como prueba tamiz Rosa de Bengala y como prueba confirmatoria ELISA de Competencia, para el diagnóstico de Brucelosis.



Mientras que los objetivos específicos fueron:

- Confrontar la prevalencia de brucelosis de los años 1988 y 2012, mediante estudio estadístico, para obtener la tasa de incremento o disminución de la enfermedad en el cantón Limón Indanza.
- Determinar la prevalencia de brucelosis bovina según la procedencia, sexo, edad y sistema de reproducción.
- Confirmar los casos sospechosos y positivos a Rosa de Bengala mediante la prueba de Elisa por competición.



2. REVISION DE LITERATURA

2.1. BRUCELOSIS BOVINA

2.1.1. HISTORIA

Algunas autoridades en la historia de la medicina consideran que la Brucelosis es una enfermedad conocida desde Hipócrates (400 años antes de Cristo); pero las primeras descripciones más claras fueron hechas en 1751 por Cleghorn, durante la guerra de Crimea (1854 – 1856), ocurrieron numerosos casos de fiebres prolongadas que no se igualaban a ninguna otra ya conocida, se sospechaba de una enfermedad nueva. Esta sospecha fue confirmada con la ocurrencia cada vez mayor de esta fiebre en los países del mediterráneo y principalmente en la isla de Malta (23)

El capitán David Bruce fue enviado a Malta y condujo una investigación a partir de 1884. El aisló un agente llamado



Micrococcus melitensis de bazos humanos de pacientes hospitalizados que habían consumido leche de cabra cruda. (43) En 1897, Wright y Smith describieron las aglutinaciones específicas en sueros sanguíneos de enfermos. (42)

Aunque el aborto epidémico del ganado vacuno era conocido con anterioridad en el estado de Louisiana (USA), la bacteria causante no fue aislada hasta 1895 por el veterinario danés Bernhard Bang, en Copenhague, a partir de abortos de ganado vacuno y se denominó *Bacillus abortus*. (42)

Zammit (1905), demostró que tal germen es transmitido al hombre por el consumo de leche de cabras infectadas. (23)

En 1914 se aisló *B. suis* en Estados Unidos como causante del aborto enzoótico en el ganado porcino por Jacob Traum que inicialmente la identificó como *Brucella abortus*. (42)



Alice Evans, en 1918, comprobó la relación que existía entre el agente de D. Bruce y el de B. Bang. (42)

En 1920 por sugerencia de Meyer y Shaw, quedó definido el género *Brucella* en homenaje a Bruce con tres especies: *abortus*, *melitensis* y *suis*. (23)

En 1930 las preocupaciones crecían sobre la relación entre la enfermedad en animales y los seres humanos. Un comité de la Asociación Médica Veterinaria de América recomendó una vacuna que fue desarrollada a partir de una cepa de baja virulencia llamada *B. abortus* cepa 19. Esta vacuna se ha utilizado por décadas como el principal agente inmunizante para el control de la brucelosis bovina. Se ha estudiado en una variedad de dosis y de métodos de administración. (43)

Brucella ovis fue aislada por primera vez en Nueva Zelanda por McFarlane, en 1952 a partir de ovejas abortadas. En 1953, Simmons y Hall en Australia y Buddle y Boyes en



Nueva Zelanda, informaron de *B. ovis* como responsable de epididimitis el carnero. (42)

En 1952, la prueba de anillo en leche fue introducida en el programa (programa cooperativo de erradicación de Brucelosis en Estados Unidos), siendo el principal método de vigilancia en ganados lecheros con posible brucelosis. Sin embargo surgieron muchas dudas acerca del programa, dando como resultado una comisión especial, la cual recomendó muchos cambios en el programa. (43)

En 1956, Stoenner y Lackman descubrieron un agente aislado en la rata de la madera del desierto que por sus características de crecimiento en medios de cultivo permitían clasificarlo como una nueva especie del género *Brucella* y propusieron el nombre de *Brucella neotomae*. (42)

En 1966, Kimberling informó de tres casos de aborto en perros por *Brucella canis*. En el mismo año Carmichael y



Bruner descubrieron el aborto de 200 beagles por *B. canis* en Estados Unidos. (42)

En 1994, se aisló una especie de *Brucella* que no había sido reconocida antes en mamíferos marinos y un delfín en Escocia y California, respectivamente. Con posterioridad, se aislaron otras cepas en focas, marsopas y nutrias, que correspondían al menos a dos biovars principalmente halladas en focas y cetáceos, denominadas tentativamente como “*Brucella maris*”. (20)

En 2008 otra nueva especie de *Brucella*, *Brucella microti* fue aislada por primera vez en el topillo común *Microtus arvalis*. Y por último se aisló *Brucella inopinata* recientemente de una infección del implante de mama en una mujer de edad con signos clínicos de brucelosis. (17)

2.1.2. SINONIMIA

En los animales se le ha conocido con distintas denominaciones (aborto brucelar, aborto infeccioso o aborto



epizoótico) aunque se recomienda la denominación relacionada con la especie afectada (*brucelosis bovina, caprina, porcina*). En el hombre se conoce como fiebre mediterránea, fiebre ondulante, fiebre de Malta. (28)

2.1.3. ETIOLOGIA

B. abortus generalmente causa la brucelosis en el ganado bovino, el bisonte y el búfalo de agua. (34) Hasta el momento se han encontrado siete biotipos de *B. abortus*, que afectan principalmente al bovino. (1)

2.1.3.1. Morfología y caracteres estructurales

El género *Brucella* está formado por cocobacilos o bacilos cortos que miden 0,6–1,5 μm de largo por 0,5–0,7 μm de ancho. La morfología de los microorganismos del género *Brucella* es bastante constante aunque en cultivos viejos se observan formas pleomórficas. No es una bacteria móvil. No forma esporas ni flagelos, ni fimbrias o cápsulas



verdaderas. Los microorganismos del género *Brucella* son Gram negativos. (26)

Características bioquímicas:

Metabolismo oxidativo y no fermentativo; catalasa positivo. (Excepto *B. ovis*, *neotomae* y algunas muestras de *B. abortus*); ureasa positivo; reducen nitratos y nitritos; no utilizan citratos, aunque producen indol, no licuan la gelatina; dan reacciones negativas de Voges– Proskaver y Rojo de Metilo. (23) Productoras de ácido sulfhídrico. (33)

Morfología de las colonias:

Normalmente aparecen aislados, y con menos frecuencia en pares o en grupos pequeños. (26) Las colonias por lo general son translúcidas pero pueden ser opacas, las colonias lisas originan colonias translúcidas y redondeadas, con bordes completos y superficies brillantes y lisas, que produce una leve apariencia blanca azulada con la luz reflejada, si bien son de color amarillo pálido, translúcido



bajo la luz transmitida. Las especies rugosas estables (*B. bovis*, *B. canis*), poseen nivel propio de infectividad, nunca reversionen a la forma lisa. (23)

2.1.3.2. Inmunógenos

Los antígenos de la membrana externa son lipopolisacáridos antígeno A, antígeno M y antígeno R. Éste se presentan con diferente intensidad en las especies del género *Brucella*: *Brucella mellitensis* presenta más el antígeno M, a diferencia de la *Brucella abortus* y *Brucella suis*, que presentan más el antígeno A. Otras especies contienen el antígeno R. Al cultivo, estas bacterias presentan dos variantes de colonias: lisas y rugosas (L y R). Las colonias L se desarrollan a partir de aislamientos primarios y son virulentas, las colonias R provienen de subcultivos y son avirulentas. La expresión de los antígenos varía entre las colonias L y R. (33)

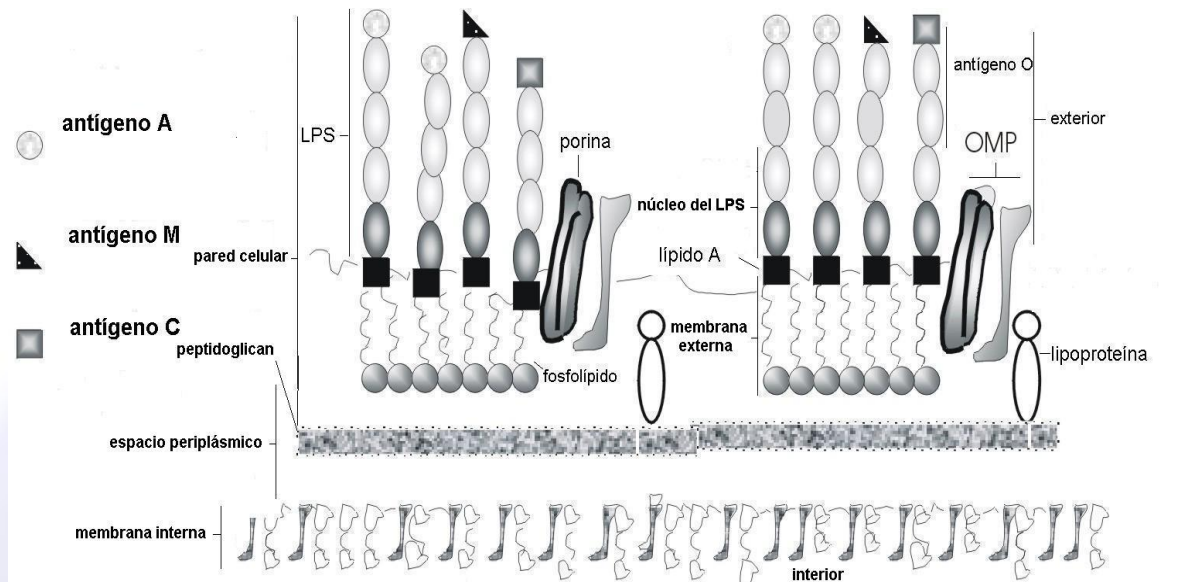


Figura 1: Esquema de la pared celular lisa de *Brucella sp.*
Fuente: Arestegui, Mirta B. y Gualtieri, Catalina. Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Veterinarias. Brucelosis Bovina.

2.1.3.3. Eritrol como ventaja

La brucelosis induce abortos en el ganado porque tienen eritrol en la placenta, lo cual favorece la multiplicación bacteriana; en contraste con el líquido placentario humano, donde hay eritrosa, que no ayuda a la reproducción de las



bacterias. Por esta razón el aborto no se presentan en los humanos. (33)

2.1.4. RESISTENCIA

La supervivencia de la Brucella está relacionada con las circunstancias ambientales de aislamiento, temperatura, humedad y pH. Aunque es relativamente resistente y puede sobrevivir por bastante tiempo, el ambiente no es considerado como una fuente importante de infección. (38)

Las brucelas se caracterizan por su gran resistencia y viabilidad. Sobreviven a largos tiempos a temperaturas bajas. En el suelo, orina, heces de animales, polvo de heno y salvado, las brucelas viven hasta 4 – 5 meses; en el hielo, nieve, mantequilla y requesón hasta 4 meses; en la lana de oveja de 3 a 4 meses; en el polvo 30 días y en la carne 20 días. Las brucelas son sensibles a altas temperaturas y sustancias desinfectantes, bajo la acción de calentamiento hasta 60 °C mueren a los 30 minutos, a 70 °C al cabo de 10 minutos, a 80 a 90 °C a los 5 minutos.



Son sumamente susceptibles al fenol, creolina, formalina, cloruro de sal, cloromicina y otros desinfectantes. (23) Y hasta veintisiete meses en garrapatas. (38)

2.1.5. TAXONOMIA

Clasificación científica:

- **Dominio:** Bacteria
- **Phylum:** Proteobacteria
- **Clase:** Alphaproteobacteria
- **Orden:** Rhizobiales (Rhizobacteria)
- **Familia:** Brucellaceae
- **Género:** *Brucella*.(20)

En la Lista Aprobada de Nombres Bacterianos el género *Brucella* incluye seis especies. (21) Esta clasificación se basa principalmente en las diferencias en las características bioquímicas, patogenicidad y preferencias de acogida. Cada una de estas especies de *Brucella* está adaptada a un huésped específico, pero no exclusivamente. (44)



- *Brucella melitensis* (cabras)
- *Brucella abortus* (vacunos)
- *Brucella suis* (cerdos)
- *Brucella ovis* (ovinos)
- *Brucella canis* (caninos)
- *Brucella neotomae* (roedores) (22)

Cepas de referencia FAO/OMS (neotipo y biotipos)

- *B. abortus* 544 (biotipo 1)
- *B. abortus* 86/8/59 (biotipo 2)
- *B. abortus* Tulya (biotipo 3)
- *B. abortus* 292 (biotipo 4)
- *B. abortus* B3196 (biotipo 5)
- *B. abortus* 870 (biotipo 6)
- *B. abortus* 63/75 (biotipo 7)
- *B. abortus* C68 (biotipo 9)

Ya no está reconocido *B. abortus* biotipo 8. (32)



En los últimos años, una importante controversia se ha desarrollado sobre la taxonomía del género *Brucella*. (44) Se han realizado estudios de hibridación de ADN y de secuenciación de los genes 16S rRNA de *Brucella* y se ha tenido una homología superior al 95 % entre las diferentes especies. (22) Incluyendo las cepas recientemente reconocidas de mamíferos marinos. *Brucella maris* (animales marinos), estas cepas de *Brucella* de mamíferos marinos tienen características fenotípicas y moleculares así como las preferencias del huésped que son claramente distintas de las seis especies reconocidas previamente. (44)

De acuerdo con la definición filogenética de especie se demostró claramente que todos estos microorganismos (un total de 51 cepas) constituyen una sola especie. (44) Por lo que en 1988, el Subcomité de Taxonomía de *Brucella* ha avalado la existencia de una única especie dentro del género *Brucella*. (15) Con *B. melitensis* como la única especie y las otras especies debe ser considerada como biovares. (44)



Biovariedades:

- *B. melitensis* biovariedad melitensis (cabras)
 - *B. melitensis* biovariedad abortus (vacunos)
 - *B. melitensis* biovariedad suis (cerdos)
 - *B. melitensis* biovariedad ovis (ovinos)
 - *B. melitensis* biovariedad canis (caninos)
 - *B. melitensis* biovariedad neotomae (roedores)
 - *B. melitensis* biovariedad maris (mamíferos marinos)
- (21)

El análisis electroforético enzimático multilocus de cepas de *Brucella* también apoyó esta propuesta de género monoespecífica. Esta propuesta no ha sido aceptada debido a diferencias bioquímicas y serológicas entre las especies, los rangos divergentes de huéspedes mostrados por estas especies, las diferencias conocidas en la virulencia y la presencia de OMP específico de especies y genes que sustentan el estado de las especies existentes.

(20)



Asimismo, en su reunión del 11 de septiembre de 2003, el Subcomité de Taxonomía de *Brucella* decidió por unanimidad volver a la posición original y reconocer la existencia de especies diferentes dentro del género *Brucella*. El reconocimiento de estas especies se justifica por el estudio del fenotipo, la epidemiología, la importancia de estas bacterias en la salud humana y animal y el uso potencial de estas bacterias en la guerra bacteriológica. (15)

Cuadro 1: Clasificación del género *Brucella*, huéspedes naturales y potencial zoonótico

Especies	Biotipos	Huesped natural	Potencial Zoonótico
<i>B. melitensis</i>	1-3	Cabras, ovejas	+++
<i>B. abortus</i>	1-6,9	Bovinos	++
<i>B. suis</i>	1,3	Cerdos	+++
	2	Cerdos	+
	4	Caribú, reno	++
	5	Roedores	+++
<i>B. canis</i>	-	Perros	+
<i>B. ovis</i>	-	Ovejas	-
<i>B. neotomae</i>	-	Rata del desierto	-



		(<i>Neotomae lepida</i>)	
<i>B. maris</i>	...		un reporte
<i>B. cetaceae</i>		Delfines, ballenas	
<i>B. pinnipediae</i>		Focas, nutrias, marsopas	
<i>B. microti</i>	-	Topillos campesino ...	
		(<i>Microtus arvalis</i>)	

Elaboración: Autores

Desde el año 2007, *Brucella ceti* y *Brucella pinnipedialis* (infectando preferentemente los cetáceos y pinnípedos, respectivamente) son reconocidos como nuevas especies de *Brucella*. En 2008, otra nueva especie de *Brucella*, la *Brucella microti* fue aislado por primera vez en el topillo común (*Microtus arvalis*) y por último, se aisló *Brucella inopinata* recientemente de una infección del implante de mama en una mujer de edad con clínica signos de brucelosis. Esta especie es la única que no se ha aislado de cualquier reservorio animal. (17)

2.1.6. EPIDEMIOLOGÍA



2.1.6.1. Distribución geográfica

La incidencia y prevalencia de la brucelosis tienen importantes variaciones geográficas. Las zonas de mayor prevalencia corresponden a la región del Mediterráneo, Asia occidental, algunas partes de África y América (Estados Unidos, México, Brasil, Perú, Colombia y Argentina). *B. melitensis* es la especie más difundida seguida de *B. abortus* y *B. suis*. (8)

La brucelosis tiene una distribución geográfica limitada, especialmente en países con bajos recursos económicos. En el centro y norte de Europa y en Australia la infección por *B. abortus* ha sido prácticamente erradicada. (30)

En Norteamérica, la brucelosis es especialmente prevalente en las zonas agrícolas del norte y centro de México, mientras que en Estados Unidos ha disminuido considerablemente en los últimos años *B. abortus* está presente en todos los países de América Central, siendo la prevalencia de un 4 a un 8%. En Sudamérica se encuentra



en varios países, donde en muchos casos es endémica y un problema sanitario importante. (30)

En Ecuador en el 2009 se registra un porcentaje de 1 % de prevalencia de brucelosis bovina. La brucelosis bovina produce grandes pérdidas económicas en el país estimadas en cinco millones de dólares al año (SESA, 2005) debido principalmente a la disminución de la producción de leche, abortos de vacas y otros problemas de infertilidad. (40)

Espinoza, determino que la prevalencia de brucelosis bovina en el cantón vecino Gualaquiza de la provincia de Morona Santiago fue de 2.22% en un estudio realizado a 225 bovinos en el año 2010. (12)

La brucelosis, ampliamente distribuida, posee enorme importancia económica en casi todo el mundo, sobre todo en el ganado lechero. (3)

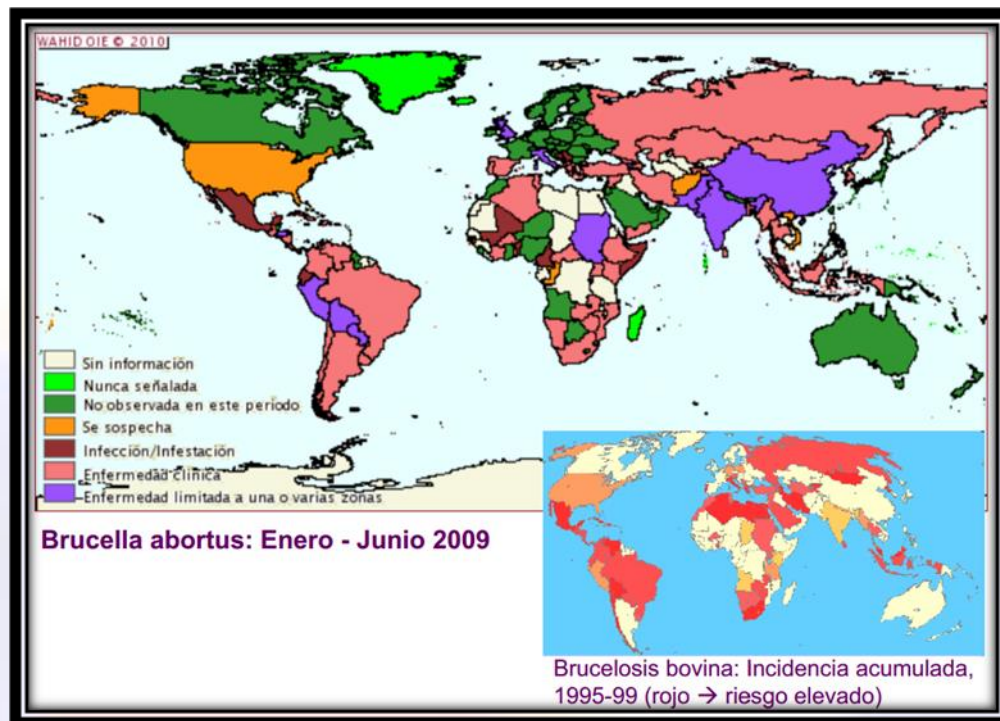


Figura 2: Distribución mundial de la brucelosis en el 2009.
Fuente: Organización Mundial de Sanidad Animal. Mapas de distribución de las enfermedades. Brucelosis bovina.

2.1.6.2. Reservorios naturales

Bofill et.al., (1996), describen que la supervivencia de los agentes etiológicos de la enfermedad en la naturaleza, está dado por la existencia de reservorios naturales, de los cuales se citan los bovinos, porcinos, caprinos y ovinos, de *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*, respectivamente. El



hospedador natural de *B. canis*, es el perro y el de *B. ovis* es el ovino. (19) La especificidad de estas especies no es absoluta, puesto que la *Br. abortus* puede infectar a los porcinos y caprinos cuando las especies se crían juntas. (31)

La mayoría de las especies de *Brucella* permanecen en una cantidad limitada de reservorios. Los huéspedes de mantenimiento para *Brucella abortus* son el ganado bovino, visón (*Bison sp.*), búfalo de agua (*Bubalus bubalus*), búfalo africano (*Synceru scaffer*), alce y los camellos. Se informó recientemente que una población de cerdos salvajes eran portadores *B. abortus* en los EE.UU. (34)

Otras especies pueden convertirse en huéspedes accidentales, particularmente mediante el contacto cercano. Las infecciones con *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* son informadas ocasionalmente en muchos animales, tales como los caballos, bovinos, ovejas, cabras, cerdos, alces americanos, gamuzas, íbices alpinos, mapaches, oposums, perros, coyotes, zorros y los lobos. (34)



2.1.6.3. Transmisión

La fuente principal de la infección bovina son los fetos, las envolturas fetales y las descargas vaginales que contiene un gran número de brucelas. (36)

La vía de penetración más importante es el tracto gastrointestinal por ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas. Las vacas tienen además la costumbre de lamer membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, que contienen todos ellos gran número de *Brucella* y constituyen una fuente de infección muy importante. (31)

El instinto de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección, sin embargo algunos autores consideran que el contagio por vía cutánea tiene por lo menos, la misma importancia, por ejemplo: se pueden producir infecciones mediante las camas infectadas, cuando haya lesiones en las tetillas o en los extremos de los miembros o en el espacio interdigital que faciliten la penetración del agente



patógeno en capas profundas de la piel, al ordeñar, quizás puedan introducir *Brucella* en la piel de los pezones las manos humedecidas con leche infectada. (31)

La vía vaginal fue utilizada por Bang y otros para reproducir experimentalmente la infección y la enfermedad. Según las experiencias realizadas, al parecer se necesitaría un número grande de brucelas para infectar una vaca por este medio. (36)

En ambientes cerrados, es probable que la infección se transmita por aerosoles. La vía aerógena de penetración ha sido demostrada experimentalmente. La infección artificial se consigue a través de la conjuntiva tras la inoculación de *Brucella* en ese sitio. La infección parece aumentar a medida que se acerca la madurez sexual, asimismo en los animales que la han alcanzado y no han padecido antes la infección. (31)

Se ha determinado que aproximadamente el 65 % de las vacas infectadas abortan; de éstas el 65% abortan solo una



vez, y el 23% dos veces. Un porcentaje mucho más pequeño abortan más de dos veces. Cuando el aborto no se presenta y la preñez llega a su término, a menudo la cría está débil y el animal recién nacido sufre neumonía y enteritis, lo cual retrasa seriamente su desarrollo. Se estima que del 40 al 50% de las vacas afectadas tienen obstaculizadas su capacidad reproductora, como resultado de la enfermedad. (31)

En una rodeo la fuente de transmisión primaria es un animal infectado, ya sea por padecer una infección reciente o por ser un portador crónico, se debe tener en cuenta además, que la brúcela en la especie bovina puede establecer una infección latente en los órganos del sistema retículo endotelial por largos períodos de tiempo y los animales pueden no presentar signos evidentes de infección. (1)

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



Horizontal: Ocurre por contaminación directa, esto es por la libre convivencia entre animales sanos y enfermos dentro de la cual puede ocurrir la infección interespecie. (5)

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 producto se infecta dentro del primer tercio de gestación y no es abortado, los epítomos de la bacteria 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. (5) Los anticuerpos se demuestran en la sangre después de seis meses. (31)

El uso de toros infectados para la inseminación artificial constituye un peligro importante ya que así puede difundirse la infección en muchos rebaños. (36)



Otros animales domésticos y salvajes que conviven en la granja pueden comportarse como reservorios. El hombre podría convertirse en un vector mecánico de la infección durante la inseminación artificial con semen infectado. Favorecen el contagio, la ausencia de lugares específicos para la parición de los animales infectados y la no eliminación de los productos del parto. (1)

Pueden ocurrir además infecciones cruzadas en explotaciones ganaderas donde conviven animales de diferentes especies. (1)

La enfermedad puede ser adquirida tanto por mamíferos silvestres como domésticos se han encontrado indicios de que estas especies transmiten la enfermedad al ganado bovino. (14)

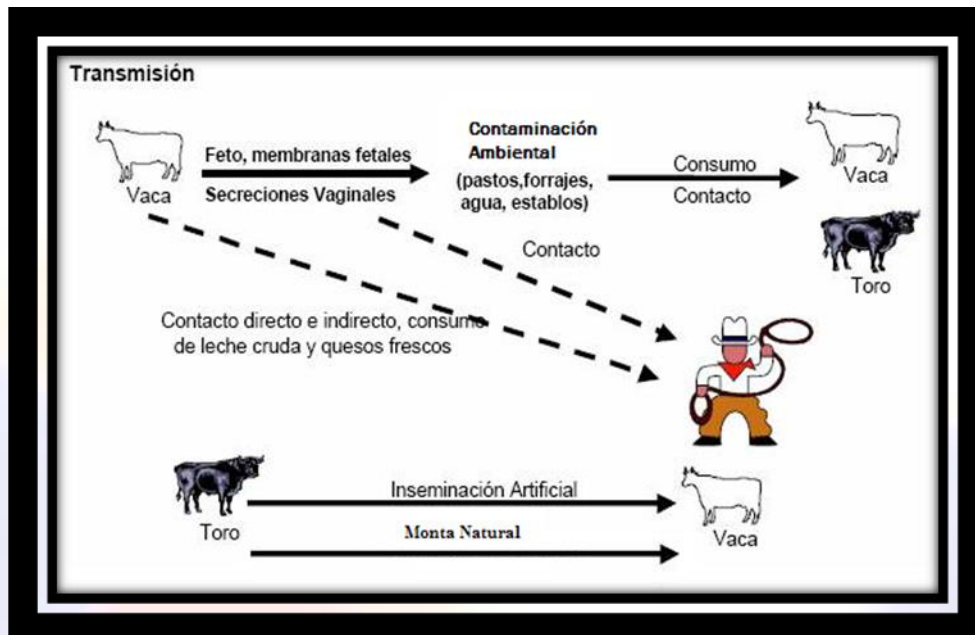


Figura 3: Cadena epidemiológica de la Brucelosis.

Fuente: <http://elhacendado.galeon.com/brucelo.htm>

2.1.6.4. Difusión y permanencia de la enfermedad en el rebaño

Wilson y Miles (1975), señalaron que la brucelosis al introducirse en un rebaño se disemina rápidamente, pudiendo alcanzar proporciones de epizootias. Si nuevos animales no son introducidos, pierde su severidad inicial pasando a una forma enzoótica, en la cual sino son



aplicadas medidas severas permanece por varios años.
(31)

2.1.7. PATOGENIA

Brucella sp., puede penetrar en el organismo por diferentes vías siendo la más importante la oronasal bien por la ingestión o lamido de material contaminado o por inhalación de polvo contaminado del establo. Otras vías posibles de entrada lo constituyen la congénita, la conjuntival, la percutánea (en el ordeño), la inoculación intramamaria y la intrauterina. (42)

Por tanto, la primera defensa que deben superar las bacterias son las barreras naturales de la piel y de las mucosas. Para ello, las bacterias Gram negativas presentan una membrana externa que les permite resistir la acción tóxica de sales biliares, de ácidos grasos y de glicéridos, así como de enzimas proteolíticos y glucosidasas. (42)



Cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares (PMN) y macrófagos como parte de la inmunidad innata. Si no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios regionales correspondientes pudiendo desde allí invadir el torrente sanguíneo, donde son fagocitadas por los PMN y macrófagos circulantes y transportadas, de esta manera, a los diversos órganos donde pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares.(6)

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: prefagocítica y postfagocítica.(5)

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*. (7)

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. (7)

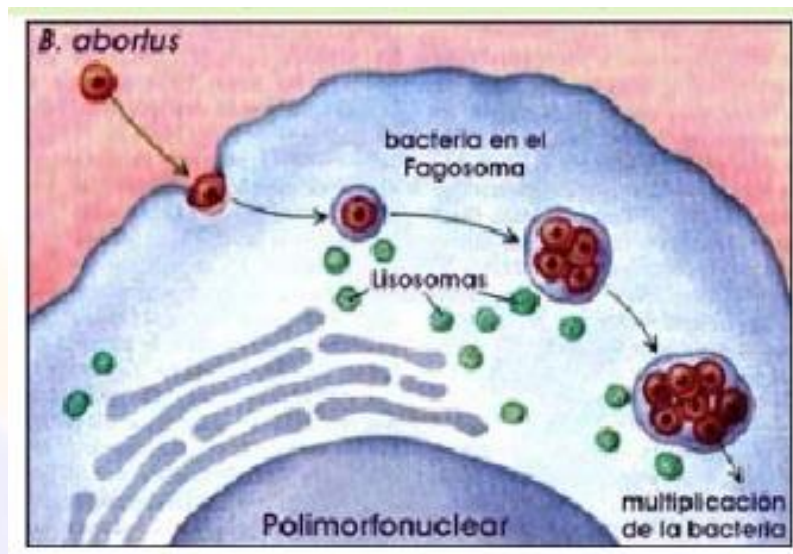


Figura 4: *Brucella abortus* fagocitada por un polimorfonucleado.

Fuente:

<http://www.slideshare.net/pacofranklin/brucelosisexpjun2012>.

Br. abortus tienen predilección decidida por el útero grávido, ubre, testículos y glándulas sexuales masculinas accesorias, ganglios linfáticos, capsulas y bolsas articulares.(3)

Los mecanismos de ingreso de la bacteria a estas células no están suficientemente aclarados aunque se presume



que el LPS (endotoxina) y las proteínas de la membrana externa podrían participar en los mismos, mediante receptores tipo manosa o integrinas, respectivamente. Las células de la placenta son ricas en receptores de manosa y en un factor de crecimiento conocido como eritritol, presente en tejidos placentarios animales, lo que explica la afección de *Brucella* por los mismos. (8)

La supervivencia de *Brucella* dentro de las células se ha asociado con la síntesis de enzimas antioxidantes y a la producción de GMP (guanosina 5' monofosfato) y adenina, que inhiben la fusión fagosoma-lisosoma, la desgranulación, la activación del sistema mieloperoxidasa-haluro y la producción del TNF- α . (34) La cadena O del LPS ha sido implicada como una molécula clave en la supervivencia endocelular. (1)

El periodo de incubación oscila de 2 a 3 semanas, pero puede ser mayor (300 días o más) dependiendo del tamaño del inóculo y la vía de infección. Las cepas lisas de *B.*



abortus se replican intracelularmente más eficientemente que la cepa 19 o las cepas rugosas. (1)

El cuadro clínico y la evolución de la infección varían en función de la especie animal afectada. En los mamíferos rumiantes y en el ganado porcino la manifestación clínica es el aborto. (8)

2.1.7.1. Vacas no preñadas

Pueden resultar infectados debido al agotamiento de sus anticuerpos hormonales contra el organismo con mayor rapidez que en el caso de los bovinos que se infectan durante la preñez, en la vaca adulta no preñada suele ocurrir localización en la ubre y el útero. Las ubres infectadas son clínicamente normales pero tienen gran importancia como fuente de reinfección del útero, como fuente de infección para los becerros o para el hombre que ingiere la leche y por ello son la base de la prueba de aglutinación en leche y suero. (1)



Después del establecimiento de los mecanismos de reconocimiento antigénico o durante el período neonatal, si ocurriese la infección, las hembras, a pesar de no manifestar clínicamente la enfermedad y encontrarse negativas a las técnicas serológicas de diagnóstico en el momento del servicio, pueden reactivar la infección durante la gestación. Una explicación al menos parcial de este hecho estaría dada por el aumento del eritritol placentario, potente factor de replicación en la mayoría de las especies domésticas. (1)

2.1.7.2. Vacas preñadas

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. (5)



Al producirse la invasión del útero grávido las lesiones se inician en la pared del órgano, pero pronto es ocupada por la luz del útero, dando lugar a endometritis ulcerosa grave de los espacios situados entre los cotiledones. El alantocorion, los líquidos fetales y los cotiledones placentarios son invadidos inmediatamente después con destrucción subsecuente de las vellosidades. El aborto suele producirse a los tres últimos meses de gestación, siendo el periodo de incubación inversamente proporcional a la etapa del desarrollo del feto en el momento de la infección.(3) La eliminación de la bacteria es importante durante los 45 días post-parto. (14)

2.1.7.3. Feto

El eritritol, una sustancia producida por el feto y capaz de estimular el crecimiento de *B. abortus*, existe de forma natural en sus máximas concentraciones en la placenta y los líquidos fetales y es probablemente responsable de que la infección se localice en estos tejidos. (3)



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. (5)

2.1.7.4. Machos

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. La infección provoca ocasionalmente orquitis y epididimitis unilateral con tumefacción aguda y dolorosa. Las lesiones granulomatosas espermáticas pueden producir fibrosis



intersticial, lo cual repercutirá en la libido del animal así como en la cantidad de semen producido. (5)

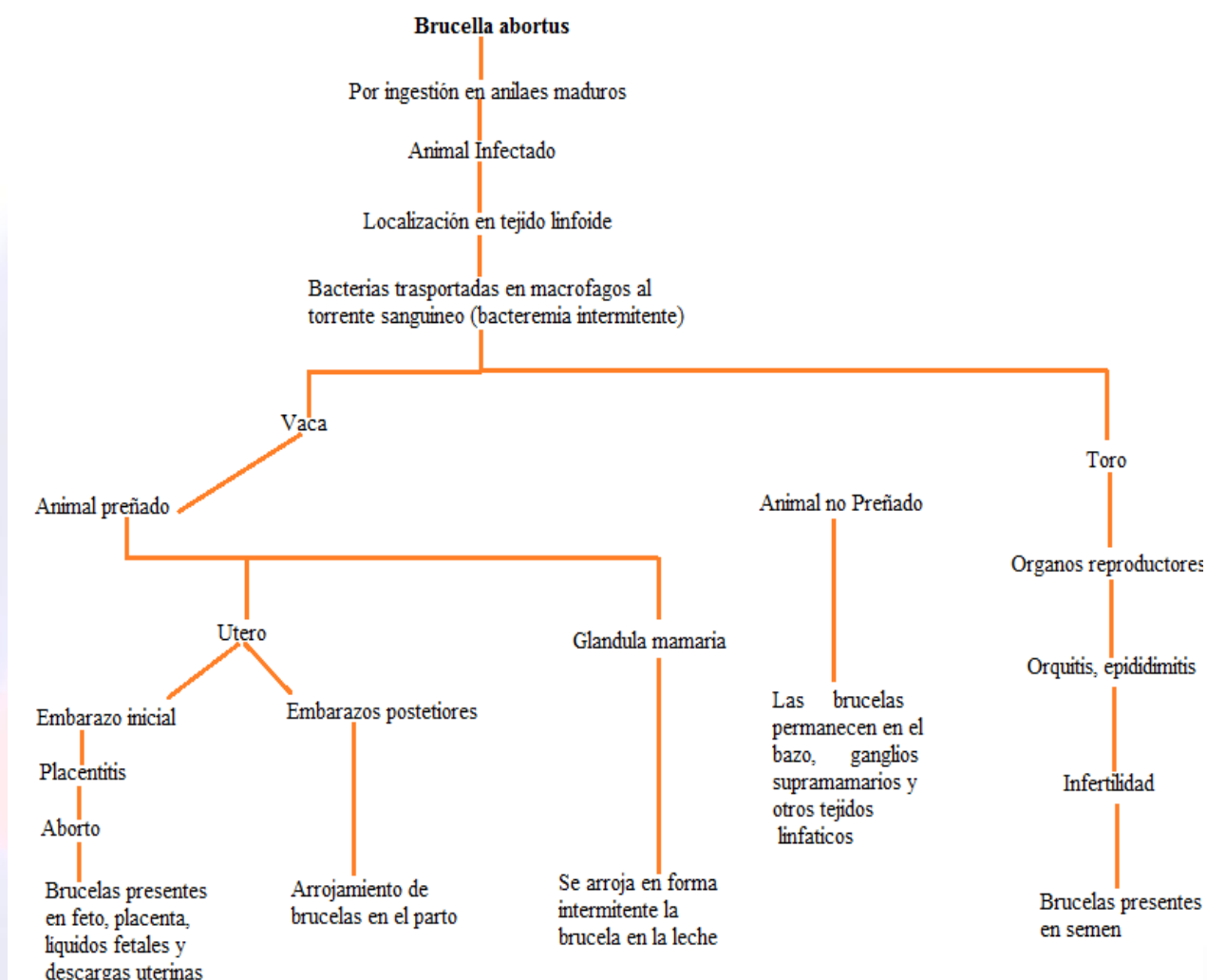


Figura 5: El progreso de la infección con *B. abortus* en ganado adulto susceptible.

Fuente: Quinn, P. J.; Markey, B K.; Leonard, F. C.; Fitz Patrick, E. S.; Fanning, S.; Hartigan, P. J. 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease.



El género *Brucella*, expresa su tropismo por diferentes órganos y tejidos (placenta, glándula mamaria, órganos sexuales, articulaciones, bolsas sinoviales, pulmón y abomaso fetal) con periodicidad desconocida. Finalmente se excreta en exudados uterinos, fetos abortados, leche, semen y orina. De esta manera completa el ciclo infeccioso y posibilita el inicio de otros. (1)

2.1.8. SIGNOS CLINICOS

El animal que está infectado es asintomático excepto durante la gestación. Algunas vacas abortan en el último tercio de la gestación, siendo más altamente susceptibles las hembras gestantes no vacunadas que abortan pasado el quinto mes de gestación. En preñeces sucesivas suele llegar al término el feto, aunque se registran casos de dos y tres abortos en la misma vaca. (3) Sin embargo las vacas pueden eliminar el organismo en la leche y en las descargas uterinas. Es posible que la placenta quede retenida y disminuya la lactancia. (34) A medida que la tasa de abortos disminuye se limitan a primerizas y a los nuevos



animales llegados al rebaño, ya que los demás han pasado una etapa de resistencia parcial. (16)

En los toros, algunas veces se observa epididimitis, vesiculitis seminal, orquitis y abscesos testiculares. (34)



Figura 6: (A) Membranas fetales necrosadas por infiltración de *Brucella* sp. (B) Lesión testicular

Fuente: Díaz Miranda Consuelo et.al., INIAP. Manual de enfermedades infecciosas en el ganado bovino de la zona central del litoral ecuatoriano.

En ocasiones se produce infertilidad en ambos sexos, debido a metritis u orquitis/epididimitis En algunos países tropicales, un síntoma común es la presencia de higromas, particularmente en las articulaciones de las patas. Se



pueden manifestar artritis después de infecciones prolongadas. Los signos sistémicos normalmente no aparecen en infecciones no complicadas, y las muertes son raras salvo en el feto y recién nacido. En general las hembras con infecciones pero no gestantes no presentan síntomas. (34)

2.1.9. HALLAZGOS DE NECROPSIA

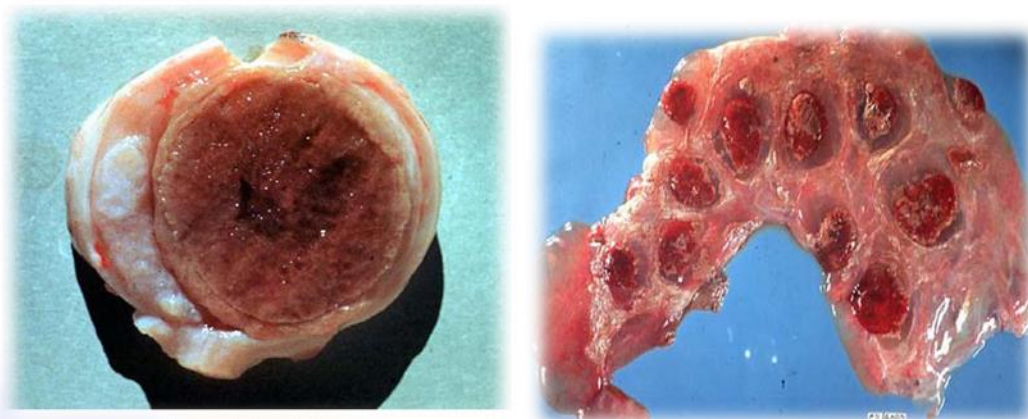
La gravedad de las lesiones placentarias es variable; en el caso característico se encuentran cotiledones necrosados, engrosamiento de la placenta intercotiledonaria con aspecto de gelatina amarillenta, así como presencia de un exudado viscoso inodoro de color caramelo. Mediante un examen microscópico se observa que el estroma placentario presenta infiltración mononuclear con algunas células polimorfonucleares. Las células epiteliales de la placenta presentan abundantes bacterias intracelulares. (41)

En los animales adultos puede encontrarse lesiones ganulomatosas a purulentas en el tracto reproductivo del



macho y de la hembra, glándula mamaria, ganglios linfáticos supramamarios y otros tejidos linfáticos, huesos, articulaciones y otros órganos y tejidos. Se puede observar endometritis de leve a grave después de un aborto, y los machos pueden tener epididimitis y/o orquitis unilateral o bilateral. En el ganado vacuno infectado con *B. abortus*, pueden encontrarse higromas en las rodillas, rotula, corvejón, ángulo de las ancas y entre el ligamento de la nuca y las vértebras dorsales principales. (34)

Los fetos abortados suelen tener contenido abomasal amarillento turbio y con grumos, muy diferente del normal claro mucoso y cristalino. La lesión más importante para el diagnóstico de los fetos brucelosos es una bronconeumonía grave con arteritis necrosante. Es frecuente observar pequeños granulomas con células gigantes en bazo, hígado, riñón, así como linfonódulos fetales y pequeñas zonas de necrosis focal en los mismos órganos. (41)



(A)

(B)

Figura 7: (A) Lesión en testículo de toro. (B) Placentitis con necrosis cotiledonaria.

Fuente: Gasque Gómez, Ramón. UNAM Enciclopedia bovina.

2.1.10. INMUNIDAD FRENTE A BRUCELA

La inmunidad en bovino frente a *Brucella sp* implica a la inmunidad innata y a la adaptativa con la participación de macrófagos, células de citotoxicidad natural (NK), los linfocitos T cooperadores (T CD4+), los linfocitos T citotóxicos (T CD8+), los linfocitos B y las citoquinas. (42)



2.1.10.1. Inmunidad natural/innata

Los mecanismos de la inmunidad innata son los primeros en activarse ante la entrada de los agentes infecciosos. La inmunidad innata reduce el número inicial de bacterias y prepara el ambiente para la activación de los mecanismos de la inmunidad adaptativa. (13)

2.1.10.1.1. Células efectoras de la inmunidad innata

Por un lado las células NK actúan matando células infectadas y produciendo gamma interferón (IFN- γ). Y por otro, los PMN y los macrófagos van a fagocitar y destruir a *Brucella sp.*, pero también van a ser las células encargadas de transportarla hasta los ganglios linfáticos regionales más próximos y al bazo, en donde se desarrollará la respuesta inmunitaria específica o adaptativa. (42)

Los FMN (fagocitos mononucleares), han desarrollado diferentes estrategias para su eliminación en respuesta al



ataque bacteriano. Estos mecanismos defensivos comprenden:

- a) Fagocitosis
- b) Generación de radicales de oxígeno
- c) Acidificación del fagosoma
- d) Disminución del pH, y fusión del fagosoma con el lisosoma permitiendo la destrucción del patógeno mediante la degradación por medio de las enzimas lisosomales o por la actividad de defensinas
- e) Procesamiento y presentación de antígenos a los linfocitos durante la fase de inducción de la respuesta inmune específica
- f) Producción de citocinas y citotoxicidad en la fase efectora de esta respuesta (1)

Su interacción temprana con los patógenos determina el curso de la infección. Un conjunto complejo de condiciones microambientales, incluyendo citocinas y productos microbianos, controlan la actividad funcional de estas



células.(1)

En primer lugar, los neutrófilos son atraídos al sitio de la infección por estímulos químicos originados o derivados del microorganismo, para posteriormente fagocitar la bacteria, preferentemente opsonizada. La opsonización de las bacterias por anticuerpos y complemento facilita su fagocitosis. Una vez que el patógeno es fagocitado, se desarrolla una serie de mecanismos destructivos en el neutrófilo para eliminar la bacteria. (30)

Para que se produzca la muerte de las bacterias intracelulares es necesaria la desgranulación de los gránulos de los neutrófilos, con la consiguiente liberación de mieloperoxidasa. Sin embargo, la bacteria ingerida puede sobrevivir al mecanismo destructivo de los fagocitos, gracias a moléculas de bajo peso molecular que inhiben el sistema antibacteriano mieloperoxidasa-peróxido de hidrógeno-haluro. Por ello, aunque los neutrófilos son las primeras células relacionadas con la eliminación de



patógenos extraños, ellos son considerados de baja eficiencia contra *Brucella*. (30)

Los PMNN (neutrófilos) facilitan la diseminación de las bacterias por dos mecanismos: sirviendo de protección frente a las actividades bactericidas de Ac. y complemento; transportándolas hacia los tejidos linfoides y los órganos del sistema retículo endotelial donde la bacteria infecta a los macrófagos y se multiplica en su interior. (13)

Los macrófagos son células fagocíticas presentadoras de antígeno capaces de modular la respuesta inmune a través de la producción de diferentes citoquinas; son la principal célula blanco de esta infección. El tipo de fagocitosis, la naturaleza del receptor utilizado y la activación de esta célula son variables críticas para determinar el desarrollo de la infección; así, se ha demostrado que cepas rugosas (desprovistas de LPS) y lisas (con LPS) de *B. abortus* son rápidamente ingeridas sólo si son opsonizadas con complemento o anticuerpos específicos. (43)



El ingreso de la bacteria a los mismos se produce a través de la interacción entre la molécula CD14 y el LPS. Esta interacción induce también la producción de IL-12 que estimula las células NK y los linfocitos T colaboradores o helper (LTH) CD4+, que secretan IFN- γ , favoreciendo el desarrollo de una respuesta inmune predominantemente mediada por LTH1. Una vez fagocitada la bacteria, los macrófagos poseen la capacidad de destruirla inmediatamente, pero del mismo modo que ha sido descrito para los neutrófilos, *Brucella* es capaz de inhibir estos mecanismos de destrucción. (22)

Los receptores Toll-like (TLR) juegan un rol importante en el inicio de la respuesta inmune innata. Estos receptores presentes en células fagocíticas profesionales reconocen productos microbianos uniéndose directamente a ellos e inducen señales intracelulares que activan factores de transcripción (como NF- κ B) que modulan la producción de citoquinas. Células Natural Killer, forman parte de la primera línea de defensa contra *Brucella* y una vez que son activadas pueden eliminar células infectadas. B.



abortus puede activar la actividad lítica de las células NK, estimulando la producción de interleuquina-12 (IL-12) por parte de las células presentadoras de antígenos IL-12 además estimula a las células NK a secretar IFN- γ . (30)

2.1.10.1.2. Inducción de la Respuesta Inmune Humoral.

El LPS es el primer antígeno frente al cual aparecen anticuerpos de tipo IgM e IgG, después de la infección natural o de la vacunación con la cepa 19. Ya que los anticuerpos pueden opsonizar las cepas patógenas, nuevas células fagocíticas podrían ser invadidas, potenciando la infección y promoviendo el establecimiento de la brucelosis bovina. (43)

2.1.10.2. Respuesta Inmune Específica/adaptativa

La respuesta adaptativa se inicia al 4^o o 5^o día postinfección cuando los mecanismos naturales no han sido suficientes.



En esta fase los macrófagos expresan en su superficie determinados péptidos procedentes de la fagocitosis de *Brucella sp* que serán reconocidos por los T CD4+ específicos en los órganos linfoides periféricos. (42)

En la inmunidad adaptativa participan activamente los macrófagos como células presentadoras de Ag y productoras de citoquinas, los T CD4+, los T CD8+ y los linfocitos B responsables de la respuesta humoral. Estos linfocitos se podrán diferenciar en células Th1 o Th2 en función del entorno particular de citoquinas presentes durante las primeras fases de su activación y proliferación. (42)

Las células NK producen IFN- γ que estimula la fagocitosis y la producción de IL-12 por los macrófagos. Como consecuencia de la fagocitosis los macrófagos también producen IL-1 cuya función es estimular la aparición de receptores para la IL-2 en los linfocitos. (42)



Las funciones de la respuesta inmune adaptativa en la brucelosis se basan principalmente en tres mecanismos. Primero la producción de IFN- γ por células T CD4⁺, CD8⁺, y células T $\gamma\delta$, que activa la función bactericida en macrófagos. Segundo, la citotoxicidad de células T CD8⁺ y células T $\gamma\delta$ que eliminan macrófagos infectados. Y tercero isotipos de anticuerpos Th1, tales como IgG2a que opsonizan al patógeno para facilitar su fagocitosis. (13)

Las bacterias intracelulares activan a los macrófagos para la producción de IL12, que también son estimulados por el LPS-S de *Brucella sp.* (42)

2.1.10.2.1. Inmunidad de base humoral

Los Ac. son moléculas de naturaleza proteica, con una estructura compleja producida por los linfocitos B, siendo los responsables de la inmunidad de base humoral. En el control de la brucelosis juegan un papel secundario o subordinado, pero no por ello significa que no actúen. La detección de estas moléculas en el suero de animales es el



procedimiento más utilizado para el diagnóstico de la brucelosis bovina. (42)

2.1.10.2.2. Inmunoglobulinas

Brucella sp., quizás en mayor grado que otros microorganismos intracelulares facultativos, inducen la producción de Ac. Los animales en contacto con *Brucella* lisa responden con la producción de Ac dirigidos contra diferentes componentes del microorganismo, pero especialmente contra los antígenos superficiales, en particular contra el LPS-S. Los Ac producidos colaboran en la lucha del huésped contra el patógeno pero no son suficientes para evitar la enfermedad. (13)

Los Ac constituyen formas solubles de los receptores de Ag de los linfocitos B. (42)

Los isotipos de inmunoglobulinas que intervienen en la respuesta inmune contra *Brucella abortus* son las IgM, IgG1, IgG2 e IgA.



- **Características IgM:** No atraviesa la placenta, es termolábil, sensible al mercaptoetanol. (4) Es la más importante en la respuesta primaria y debido a su gran tamaño se encuentra en el torrente circulatorio. Es mucho más eficiente que la IgG en la activación del complemento por la vía clásica (basta una sólo molécula para activarlo), en la aglutinación y en la opsonización a pesar de tener una menor afinidad por el Ag que ésta. Su concentración sérica en bovino oscila entre 250-400 mg/100 ml. (42)
- **Características IgG:** Atraviesa la placenta, termoestable hasta 60°C, resistente al mercaptoetanol. (4) Por su pequeño tamaño puede emigrar fácilmente a los líquidos hísticos y a la superficie de los órganos. Tiene una gran afinidad por los Ag y puede aglutinar, precipitar y opsonizar a los Ag facilitando la fagocitosis. Su concentración sérica en bovino oscila entre 1.700-2.700 mg/100 ml y es la más abundante (42)



- **Características IgA:** No atraviesa la placenta, no fija el complemento, abundante en la leche. (4) Su principal función es evitar la adherencia de los Ag a las paredes de las mucosas. En lo bovinos se concentran principalmente en el calostro (400 mgr/100 ml). (42)

Poco después de la infección aparece la IgM, la cual puede detectarse por aglutinación y en parte por medio de la reacción de fijación de complemento y la prueba del anillo en la leche. (8)

Pueden aparecer, dentro de la clase IgG, anticuerpos bloqueantes o no aglutinantes, también llamados asimétricos, en especial en infecciones crónicas, donde suelen alcanzar títulos elevados. Estos anticuerpos se diferencian de los anticuerpos completos en ciertas propiedades tanto in vitro como in vivo como, entre otras, la incapacidad de activar complemento por cualquiera de las vías o dar adecuadas reacciones de aglutinación. (8) La fracción de IgG está compuesta por la IgG1 y la IgG2. La



primera es la más importante para el diagnóstico de la brucelosis.

2.1.10.3. Antígenos de Brucella

Lipopolisacárido: Las especies de Brucella pueden ser clasificadas como “lisas” (smooth, S) o “rugosas” (rough, R) de acuerdo al aspecto de las colonias en medio sólido. El aspecto diferente de estas colonias reside en el tipo de LPS expresado en mayor proporción en superficie: LPS-S y LPS-R, respectivamente. El LPS-S consta de una parte glicolipídica (lípidos A), inserta en la membrana externa y otra polisacáridica expuesta al exterior. (30)

Esta última se divide en dos secciones: el núcleo o “core”, más interno y la cadena O (polisacárido O: PSO). Esta cadena es un homopolímero lineal de perosamina que se encuentra ausente en el LPS-R de las especies rugosas. Provocando que animales infectados produzcan anticuerpos específicos contra este antígeno. (30)



El PSO es el antígeno (Ag) inmuno dominante de superficie, capaz de inducir una respuesta serológica en la mayoría de los animales en contacto con especies lisas de *Brucella* (*B. abortus*, *B. mellitensis* y *B. suis*); además es la estructura antigénica más expuesta y blanco de anticuerpos (Ac) protectores. Por otro lado, el PSO posee epitopes compartidos con otras especies bacterianas como *Yersinia enterocolítica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella landau*, *Escherichia coli* responsables de reactividad cruzada en las pruebas serológicas que se basan en la detección de Ac hacia este Ag. (13)

Las moléculas de manosa que presenta el extremo terminal del LPS de *Brucella* (cepa lisa) favorecen la adherencia a los fagocitos mononucleares del huésped, ya que éstos tienen los receptores de manosa. Además de los fagocitos mononucleares, las células de la placenta contienen gran cantidad de receptores de manosa, lo que sumado al tropismo de estas bacterias por el eritritol placentario de bovino, aumenta las probabilidades de abortos en estos

animales, debido a la presencia de la bacteria en ese tejido.
(30)

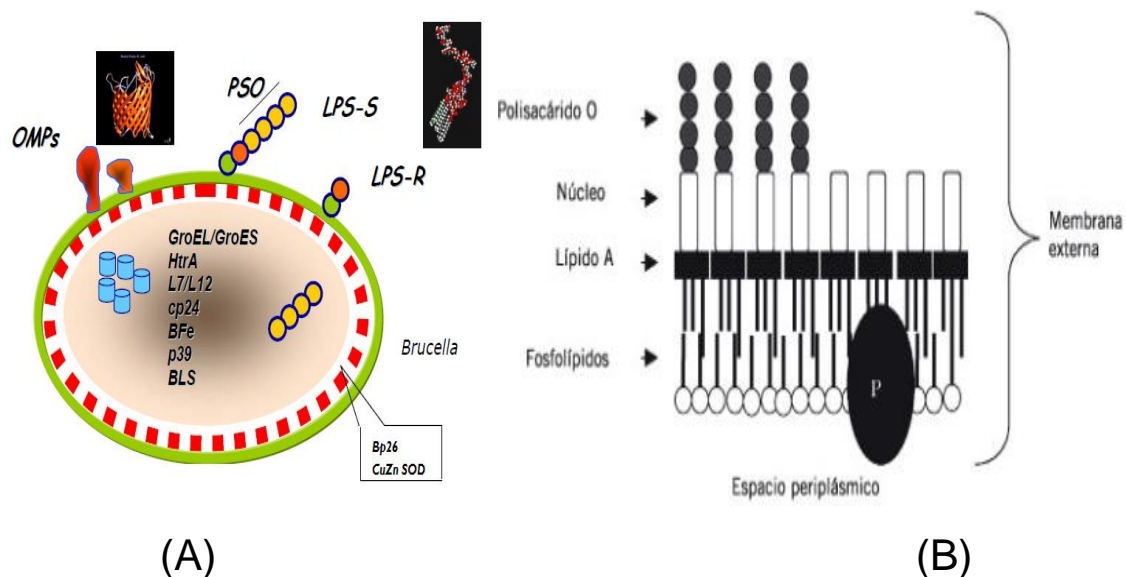


Figura 8: (A) Estructura antigénica de Brucella. (B) Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de Brucella.

Fuente: Estein Silvia Marcela. Brucelosis: Inmunidad y vacunación.

Proteínas: Las proteínas de membrana externa han sido clasificadas en tres grupos: el Grupo I se relaciona con la biosíntesis de la propia envoltura celular y tienen un peso molecular entre 88 a 94 kDa; el Grupo II es equivalente a



las porinas de otras bacterias Gram negativas, como Omp 2, OmpC y OmpF y tienen un peso molecular entre 35 a 40 kDa, finalmente, el Grupo III con peso molecular entre 25 a 30 kDa que interacciona fuertemente con el LPS. Estos tres grupos de proteínas de membrana externa son reconocidos por el sistema inmune durante el curso de la infección. (30)

En *Brucella* han sido identificadas varias proteínas periplásmicas inmunogénicas. (13) Destacan la proteína superóxido dismutasa Cu/Zn (SOD) y la catalasa. La SOD Cu/Zn forma parte del sistema de defensa antioxidante de *Brucella*, el cual protege a la bacteria de los efectos tóxicos de los intermediarios reactivos del oxígeno. (30)

Entre las proteínas citosólicas se han caracterizado las proteínas del estrés térmico: GroEL, GroES, DnaK, HtrA. (13) Las proteínas GroEL y GroES son chaperonas relacionadas con el plegamiento correcto de proteínas, mientras que HtrA es una proteasa que degrada proteínas dañadas oxidativamente. HtrA protege a la bacteria intracelular del daño oxidativo y contribuye a la resistencia



de Brucella a la destrucción por los fagocitos. La enzima UvrA repara las lesiones del ADN después del daño oxidativo, como mecanismo de protección bacteriano. (30)

2.1.11. DIAGNÓSTICO

Todos los abortos en el ganado bovino deben considerarse como casos sospechosos y debería investigarse. (25) El diagnóstico clínico no es de gran utilidad desde el punto de vista de que no hay signos patognomónicos, en general el aborto se produce en varios animales y son necesarias pruebas de laboratorio para confirmar el agente etiológico. (21)

Diagnóstico Bacteriológico

Consiste en aislar las brucelas de órganos de mayor concentración como ser: puntos de fijación de la placenta, órganos del feto (hígado, pulmón, estómago), ganglios,



leche, secreciones vaginales, plasma seminal y sangre.
(23)

El examen bacteriológico es de elección, sin embargo, es laborioso, costoso y no puede realizarse de rutina. (21) A veces no se puede realizar el diagnóstico bacteriológico de la infección por Brucella; por ejemplo, en las campañas de control cuando hay que examinar la situación de un elevado número de animales. (23)

Pruebas Serológicas

La detección de anticuerpos en suero, plasma, plasma seminal, leche o descarga uterina es indicativa de infección en el rodeo. Primero se utilizan pruebas de alta sensibilidad (tamiz) y luego las confirmatorias de menor sensibilidad pero mayor especificidad. (21)

Pruebas recomendadas por la OIE:



Aglutinación con antígeno buferado en placa (BPA)

Es una prueba tamiz, rápida, práctica y económica que reduce las aglutinaciones inespecíficas y es ligeramente más sensible que la prueba de Rosa de Bengala. El bajo pH del antígeno favorece la aglutinación de los anticuerpos del isotipo IgG. (22)

Prueba de seroaglutinación lenta en tubo

Las pruebas de seroaglutinación detectan la presencia de los anticuerpos IgM e IgG. Los anticuerpos IgM aglutinan más intensamente que los IgG ya que, al ser las moléculas pentavalentes, poseen mayor número de sitios de unión. (25) La prueba está sujeta a menos errores de manipulación y presenta menos reacciones inespecíficas que la de la placa. (23)

Prueba simultánea en tubos y 2- Mercaptoetanol

La prueba se realiza en un portaobjeto o en una placa de vidrio. No son necesarios aparatos especiales, además ofrece la ventaja de ser rápido y sencillo, lo que permite



aplicarlo en forma masiva en campañas de control, erradicación y en muestreos para establecer la prevalencia de la enfermedad. Sin embargo el método tiene el inconveniente de las aglutininas específicas. (23)

Prueba de anillo en la leche (PAL)

La prueba se diseñó para detectar la presencia de anticuerpos en la leche. La prueba de anillo en la leche se usa especialmente como diagnóstico presuntivo para descubrir rebaños infectados. También se emplea en la vigilancia epidemiológica en áreas de control de la brucelosis. Los animales de rebaños positivos a la prueba de anillo en la leche deben ser examinados por pruebas serológicas para identificar los infectados. (25)

Ezimoimmuno ensayo indirecto (I ELISA)

Permite detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* de animales domésticos y salvajes. (25)



Ensayo de polarización fluorescente para la detección de anticuerpo contra *Brucella abortus* en suero

Para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* tiene la capacidad de ser una prueba multi-especies, permitiendo el diagnóstico presuntivo en bovinos, caprinos, ovinos, ciervos y bisontes. Este ensayo validado para bovinos, tiene la capacidad de distinguir animales infectados con *Brucella* de los animales vacunados con cepa 19 y de los animales con reacción cruzada con bacterias gran negativas en más del 90% de los casos. (25)

Fijación de complemento

Es otra prueba sensible u específica para descubrir los anticuerpos de la *Brucella*, se ha demostrado que la correlación entre la infección y la reacción positiva es más estrecha y coincidente. Esta prueba es la más específica, pero resulta muy laboriosa, muy complicada e interviene



muchos elementos y variantes que afectan su uniformidad.
(23)

Rosa de Bengala

Esta prueba de aglutinación es una de la más comúnmente usadas para el diagnóstico de la brucelosis bovina, utiliza células completas de *Brucella abortus cepa 99 o cepa 1199.3*, coloreadas con rosa de bengala a un pH de 3.65. El pH bajo previene alguna aglutinación por IgM, y estimula la aglutinación por IgG1, reduciendo así alteraciones no específicas. Es considerada útil para el tamizaje individual de animales. (40)

La prueba de Rosa de Bengala es rápida, de fácil ejecución, y permite el procesamiento de un gran número de muestras por día. Es una prueba cualitativa que clasifica los animales en positivo o negativo. En regiones de baja prevalencia de infección o donde se practica la vacunación sistemática de terneras, la Rosa de Bengala es poco



específica, y produce muchos “falsos negativos”, si se usa como prueba única y definitiva. (36)

Los animales con resultados negativos son clasificados como tales y los de resultado positivo son sometidos a otras pruebas confirmatorias. De esta manera muchos sueros sospechosos resultan negativos a la Rosa de Bengala y como esta prueba es muy sensible (deja pocos “falsos negativos”) y precoz en detectar la infección hay escaso riesgo de no detectar animales infectados. (36)

Sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado. Anticuerpos resultantes de la vacunación con Cepa 19 de *B. abortus* y algunos anticuerpos que producen reacciones cruzadas son detectados por esta prueba, por lo que es necesario utilizar otras pruebas para confirmar animales reactores e infectados. (40)

La prueba consiste en hacer reaccionar el suero sanguíneo del bovino con el reactivo Rosa de Bengala que en casos



positivos presentará aglutinación. Se produce una suspensión bacteriana a la que se ha añadido el colorante Rosa de Bengala, enfrentándola al suero sin diluir del enfermo. Proporciona una aproximación diagnóstica en pocos minutos, con una sensibilidad y especificidad muy altas. Presenta elevado grado de correlación con la seroaglutinación. (40)



Figura 9: Reacción Rosa de Bengala

Fuente: Torres Hernán, Sandoval Patricio. Programa nacional de control de brucelosis bovina.

La prueba de Rosa de Bengala puede dar resultados falsos positivos debido a la presencia de anticuerpos residuales por vacunación con *B. abortus* Cepa 19 y por reacciones cruzadas con otras bacterias Gram negativas que



comparten un lipopolisacárido superficial similar al que presenta la *Brucella*. Dentro de estas bacterias se puede citar a *E. coli* O: 116 y O: 157, *Francisella tularensis*, *Salmonella* serotipos Kauffman-White del grupo N, *Pseudomona maltophilia* y *Yersinia enterocolitica* serotipo O: 9. (18)

Elisa por competición

Esta prueba por su alta sensibilidad y especificidad ha llegado a ser la técnica de inmuno-ensayo más utilizada, con aplicaciones para el diagnóstico serológico de rutina. (40) Elisa de competición (c-ELISA) posee además otra ventaja: permite diferenciar animales vacunados de infectados. (21) Las placas tapizadas por un lipopolisacárido (S-LPS) de la bacteria, junto con un anticuerpo monoclonal específico para un epítipo de la porción O-polisacárido del antígeno S-LPS, proporciona esa especificidad. (35)

El principio de la prueba se basa en un anticuerpo monoclonal único, el cual compete diferencialmente con los



anticuerpos producidos en la respuesta a la vacunación con cepa 19, infección por *B. abortus* de campo u otros factores no específicos para un epítipo o determinante antigénico específico en el LPS de *B. abortus*. Las muestras de suero o plasma son mezcladas con anticuerpo monoclonal biotinilado e incubadas en placas de c-ELISA de 96 pozos, a las cuales se les ha pegado LPS purificado de *B. abortus*. (40)

En ausencia de anticuerpos en el suero problema (suero negativo), el anticuerpo monoclonal (mAb) se unirá al epítipo de la porción O-polisacárido del antígeno S-LPS, con la consiguiente aparición de color. Si la muestra contiene anticuerpos específicos de *Brucella* (suero positivo), éstos competirán con el anticuerpo monoclonal e inhibirán su unión al epítipo de la porción O-polisacárido del antígeno S-LPS y la consiguiente no aparición de color. Muestras procedentes de animales vacunados con la cepa 19 no competirán con el anticuerpo monoclonal debido a su especificidad y baja afinidad, dando como resultado una reacción negativa (35)



Cuadro 2: Clasificación según métodos de diagnóstico directo e indirecto

Métodos de diagnóstico directos

Aislamientos	Detección de antígenos	Detección de material genómico
<ul style="list-style-type: none">• Cultivos bacteriológicos.• Cultivos Celulares	<ul style="list-style-type: none">• Inmunohistoquímica• Inmunofluorescencia	<ul style="list-style-type: none">• PCR

Métodos de diagnóstico indirectos: Detección de anticuerpos específicos

Pruebas usadas como tamiz	Pruebas confirmatorias
<ul style="list-style-type: none">• Antígeno buferado en placa• Rosa de Bengala• RAP automatizada• Prueba rápida en	<ul style="list-style-type: none">• Lenta en Tubo• 2 mercapto etanol• Fijación de complemento• Enzimoinmunoensa



- placa
- Anillo en la leche
 - Prueba de precipitación del Rivanol
 - Prueba de moco vaginal
 - Pruba de semen
 - Pruebas intradérmicas de Hipersensibilidad Retardada.

- yo (ELISA)
- Fluorescencia polarizada

Elaboración: Autores

2.1.12. TRATAMIENTO

A pesar de los extensos estudios realizados en los últimos 15 años, la terapia antibiótica óptima para el tratamiento de la brucelosis está aún en discusión debido a la fisiopatología de la enfermedad, relación hospedero – parásito, efectividad y costo del tratamiento y el riesgo zoonótico, por lo anterior no se recomienda el tratamiento. Debido a que la localización de la *Brucella* es intracelular, para su tratamiento se requiere la asociación de más de un



antimicrobiano por varias semanas, lo que resulta costoso a la hora de evaluar la relación costo-beneficio.(2)

2.1.13. CONTROL Y ERRADICACIÓN.

Los aspectos epidemiológicos que determinan la dificultad de la erradicación de la brucelosis se pueden concretar en los siguientes:

- El animal infectado eliminan un gran número de bacterias en el aborto o el parto.
- La eliminación de bacterias en leche se puede mantener en toda la vida del animal.
- Existen animales nacidos de vacas infectadas con infecciones latentes que manifiestan los síntomas de la enfermedad en el momento del parto o aborto
- También existen animales infectados con curación aparente que, sin embargo, pueden permanecer eliminadores durante toda su vida.
- La bacteria presenta una gran resistencia en el medio ambiente. (42)



La única forma de liberar de esta enfermedad a una explotación ganadera, es a través de la ejecución de un programa sanitario adecuado, que contemple la vacunación, medidas sanitarias de manejo en la finca y exámenes sanguíneos periódicos, para diagnosticar, identificar y eliminar los animales infectados. (40)

La eliminación de los animales enfermos, la vigilancia epidemiológica, la vigilancia sanitaria en camales y mataderos, el control de la movilización de animales, las pruebas serológicas y las campañas de educación sanitaria son indispensables en un programa de control. (40)

Para el control de brucelosis en áreas enzoóticas con alta prevalencia se recomienda la vacunación. (27)

En zonas o países con baja prevalencia se puede proceder a un programa de erradicación, que consiste principalmente en aplicar al rebaño repetidas pruebas serológicas de diagnóstico, y eliminar los animales reactivos hasta la desaparición completa del foco de infección. (27)



2.1.13.1. Cuarentena

Medida sanitaria que se aplica a los predios infectados con el fin de controlar el movimiento de hembras y machos, la brucelosis al transmitirse por contacto directo, por lo tanto el libre desplazamiento de animales provenientes de predios infectados amenaza la condición sanitaria de predios limpios de la enfermedad. Se levantara la restricción cuando el predio cuarentenado se declare saneado o hasta cuando los animales puedan desarrollar la enfermedad que corresponde a veces de 120 días a 1 año. (10)

2.1.13.2. Estrategia Nacional en el Ecuador

Cuadro 3: Prevalencia de acuerdo a regiones del Ecuador.

Regiones	Provincias	Prevalencia %
1	Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo	1.97-10.62
2	Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, Los Ríos, El	4.2-10.62



	Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas	
3	Bolívar, Cañar, Azuay y Loja	1.3-2.6
4	Amazónicas	Sin datos
5	Islas Galápagos	Indemne

Fuente: Torres Hernán, Sandoval Patricio. 2009. Dirección de sanidad animal programas específicos.

Cuadro 4: Estrategias de control diferenciadas para cada región

Estrategias de control	Prevalencia/ Regiones		
	Alta 1 y 2	Media 3 y 4	Inde mne 5
Campaña de vacunación.	X		
Vigilancia epidemiológica	X	x	x
Identificación y certificación de fincas libres	X	x	



Mantenimiento, vacunación en áreas infectadas		x	
Eliminación de reactores positivos	X	x	
Control sanitario de ingreso y egreso de animales	X	x	x
Actividades de educación sanitaria	X	x	

Fuente: Torres Hernán, Sandoval Patricio. 2009. Dirección de Sanidad Animal Programas Específicos.

La vacunación con vacuna Cepa 19 para la prevención de brucelosis se aplicará en terneras nacidas en la propiedad, una sola vez a la edad de 3-6 meses. (40)

La vigilancia epidemiológica es el diagnóstico de predios y animales mediante las pruebas de Ring-Test en leche y de Rosa de Bengala como pruebas confirmatorias el ELISA



Competitivo (c-ELISA) y otras pruebas autorizadas por la OIE. (40)

2.1.13.3. Vacunas

Las vacunas utilizadas contra la brucelosis en general no protegen completamente contra la infección y/o el aborto. Hasta el momento, se han desarrollado diversas vacunas para el control de esta enfermedad en las distintas especies. (1)

2.1.13.3.1. Características de la Cepa RB51

La vacuna cepa RB 51 es una mutante de la cepa 2308 de *Brucella abortus*, genéticamente estable y de morfología rugosa, que perdió la cadena lateral O de polisacárido de la superficie de la bacteria. (9)

Por lo que no induce la producción de anticuerpos contra el LPS en los animales vacunados. Este hecho es de importancia en el control de la enfermedad ya que permite



diferenciar los animales vacunados de los infectados naturalmente. (1)

Fue desarrollada por pasajes seriados en medio selectivo, lo cual dio como resultado una cepa igualmente inmunogénica, pero menos virulenta que la vacuna cepa 19. (9) La cepa RB51 se obtuvo por sucesivos pasajes en medios de cultivo con rifampicina. (1)

La vacunación con RB 51 no da como resultado títulos de anticuerpos post vacunales contra *Brucella* que puedan ser medidos por las pruebas standard. (9)

Los terneros se vacunan subcutáneamente entre los 4 y 12 meses, y la revacunación de 12 meses en adelante. (29) La cepa RB51, permite la revacunación y posibilita la vacunación de adultos sin riesgos de falsos positivos. (1)

2.1.13.3.2. *Brucella abortus* S19

La vacuna S19 de *B. abortus*, desarrollada en 1930 por el Dr. John M. Buck, es una cepa atenuada, de morfología



lisa. (19) Aislada de la leche de vaca jersey, no exige CO₂ para su desarrollo; es inhibida en medios de cultivo con 5u/ml de penicilina. (6)

La vacuna B. abortus Cepa 19 confiere protección completa contra la infección en 67-75% de los animales vacunados. En un porcentaje superior al 95% de la vacunación evita el aborto en hembras que se han infectado. (6)

Se utiliza como una vacuna viva que por lo general se suministra a terneras entre 3 y 6 meses (29) La presencia de la cadena O del LPS explica el desarrollo y persistencia de anticuerpos post-vacunales en el suero. (17)

En animales inmunizados con esta cepa se pueden observar anticuerpos específicos contra este antígeno del tipo IgG1, IgG2b e IgM. El defecto genético que permite la atenuación de esta cepa aún no ha sido definido, pero hace que pierda un mecanismo de virulencia esencial. Su efectividad en el ganado bovino depende de variables como la edad de vacunación, dosis, ruta de administración y de la prevalencia de la brucelosis en el rebaño vacunado. (30)



Los anticuerpos inducidos por la vacunación con esta cepa interfieren con el diagnóstico tradicional de bovinos infectados con cepas silvestres de *B. abortus*, por lo que tiene un uso limitado en la vacunación del ganado; esta cepa puede también inducir aborto en hembras preñadas y es patógena para la especie humana. (30)

La cepa 19 por producir Ac que enmascaran el diagnóstico debe ser administrada a los bovinos de menos de 10 meses de edad y, por la misma razón no permite la revacunación. La dosis oficial de la vacuna cepa 19 es de 2ml con una concentración $15 - 30 \times 10^9$ de gérmenes viables. (1)

2.1.13.3.3. *Brucella abortus* 45/20

La cepa 45/20 es una cepa rugosa, fue desarrollada por 20 pasajes repetidos de *Brucella abortus* 45 en cobayos. A pesar de que no induce anticuerpos contra la cadena O del LPS e induce una protección significativa contra la infección por *Brucella abortus*, no es muy utilizada porque es inestable y puede revertir a su forma virulenta in vivo. La



cepa 45/20 también ha sido utilizada en forma inactiva, pero adicionada junto a un adyuvante oleoso, la que ha demostrado una relativa efectividad, pero provoca una reacción inflamatoria local en el sitio de la inyección. (30)

2.1.13.3.4. *Brucella abortus* RB51-SOD

Basándose en reportes sobre la efectividad de la proteína SOD Cu/Zn de *B. abortus* expresada en *E. coli* DH5α en proteger a ratones vacunados del desafío con la cepa patogénica de *B. abortus* 2308, Schurig y col desarrollaron una nueva cepa de *B. abortus* RB51, que sobre expresa la proteína SOD Cu/Zn de Brucella (*B. abortus* RB51-SOD). La inmunidad protectora proporcionada por la cepa *B. abortus* RB51-SOD contra Brucella es superior a la de *B. abortus* RB51, cepa parental, sin alterar las características de atenuación de la vacuna. (30)

Las vacunas actualmente en uso contra la brucelosis animal son del tipo denominado vacunas atenuadas, que se obtienen a partir de bacterias que han perdido parcialmente



su virulencia como resultado de inoculaciones o siembras repetidas en medios de cultivo, pero que conservan su capacidad antigénica, es decir su potencial para despertar los sistemas de defensa. "Pero, resulta que una de las desventajas de las vacunas actuales es que las bacterias enteras atenuadas que se utilizan no son totalmente avirulentas; conservan su capacidad de replicarse y consecuentemente pueden provocar la infección". (7)

2.1.13.3.5. Vacunas ADN

En principio el método de vacunación con ácidos nucleicos se basa en el uso de un plásmido bacteriano que tiene un promotor viral fuerte capaz de expresarse en células eucariontes, un gen que codifica para un antígeno seleccionado y una secuencia de término de la transcripción o poliadenilación. El plásmido se replica en una bacteria (*E. coli*), se purifica y luego se inyecta por una vía determinada en el huésped. Las células del huésped es capaces de sintetizar, procesar y presentar el antígeno a



los linfocitos, originando eventualmente una respuesta de células T y B específicas para antígeno seleccionado. (30)

El plásmido es fabricado sin su origen de replicación funcional en células eucariontes, por lo tanto nunca se replica en una célula huésped de mamífero, ni se integra al ADN cromosomal del hospedador. (30)

2.1.13.3.6. Vacunas ARN

Además de los vectores plasmidiales existen otros vectores de expresión como los basados en el virus SemlikiForest (SFV). Estos vectores son partículas virales suicidas del virus SemlikiForest, cuyo genoma corresponde a un ARN desnudo autorreplicable, cuya secuencia contiene inserto el gen de interés que codifica para la proteína con capacidad inmune. Experimentos han demostrado la alta eficiencia de estos sistemas de expresión para expresar proteínas heterólogas en células eucariotas, así como también la capacidad para conferir excelentes niveles de protección en



animales inmunizados con estos sistemas de expresión, superando incluso a las vacunas ADN. (30)

2.1.13.3.7. Características de las cepas vacunales

Tanto la vacuna RB51 como la cepa 19 son estables no se propagan de un animal a otro. La ventaja de la RB51 comparada con la Cepa 19 es que no induce la formación de anticuerpos los cuales son detectados por las pruebas estándar de diagnóstico de brucelosis. La vacunación de hembras en estado de preñez podría causar aborto. La vacunación de hembras adultas induce protección inmediata contra la Brucelosis ya que los animales obtienen inmunidad 3-4 semanas después de la vacunación, lo cual acelera el proceso de control de la enfermedad. (6)

Ambas cepas vacunales son patógenas para el hombre, desde el punto de vista de la Salud Pública, la infección con cepa RB51 en el hombre no es detectada por las técnicas



convencionales (deben utilizarse tests serológicos que detecten proteínas de la bacteria y no el LPS). Por otro lado, el tratamiento común contra brucelosis no puede ser utilizado, porque esta cepa es resistente a la rifampicina. (1)

2.2. BRUCELOSIS EN HUMANOS

La OMS comunica anualmente 500.000 nuevos casos humanos que se estima representarían sólo el 4% de los casos que realmente ocurren. (11)

En América Latina los países en donde se registra el mayor número de casos son Argentina, México y Perú. (22)

Según Ron J. los municipios que tienen las tasas más altas de la brucelosis humana en los hospitales de Ecuador entre 1996 y 2008 son Quito, Ambato, Loja, Tena y Guayaquil. Siendo los grupos de mayor riesgo según actividades profesionales los trabajadores agrícolas y trabajadores de mataderos.(32)



2.2.1. Transmisión

La infección por brucelosis puede ser adquirida por contacto directo con la sangre del animal infectado con soluciones de continuidad en piel de humanos o a través la mucosa conjuntival, o a través el tracto digestivo por consumo de productos lácteos no pasteurizados y muy ocasionalmente por inhalación de aerosoles. Por lo tanto, están expuestos a adquirirla quienes trabajan con ganado como médicos veterinarios, laboratoristas y trabajadores de frigoríficos y mataderos. (37)

La infección interhumana es poco común. (37) Pocas veces la bacteria se ha transmitido por trasplante de médula ósea, transfusión de sangre o por contacto sexual. También se han documentado infecciones congénitas inusuales. (39)

Mención aparte merece la infección humana por la vacuna B. abortus cepa 19, que es la más usada para proteger el ganado bovino. Se han descrito casos de accidentes entre los vacunadores (veterinarios y ayudantes) que se han



pinchado un dedo o una mano con la aguja de la jeringa, o han recibido aerosol en un ojo. El curso de la enfermedad generalmente es más corto y más benigno que en la infección por cepas de campo de *B. abortus*, pero hay casos severos que requieren hospitalización. (36)

2.2.2. Cuadro clínico

Es difícil determinar el periodo de incubación de los humanos pero se ha estimado que va desde 5 días hasta 3 meses. (40) La brucelosis es una enfermedad multisistémica con un amplio espectro de síntomas. (34)

La etapa aguda se manifiesta con fiebre elevada, escalofríos, sudoración de olor característico, dolores musculares y articulares. Debido al empleo de los antibióticos ya no se registra el clásico patrón de fiebre ondulante. (8)

En ocasiones se observa esplenomegalia, hepatomegalia, tos y dolor de pecho. Los signos gastrointestinales que



incluyen anorexia, vómito, diarreas y constipación aparecen con frecuencia en los adultos y con menor frecuencia en los niños. (34)

En muchos pacientes, los síntomas permanecen de 2 a 4 semanas y van seguidos de una recuperación espontánea. Otros desarrollan una fiebre intermitente y otros síntomas persistentes, que fluctúan a intervalos de 2 a 14 días. La mayoría de las personas que padecen esta forma ondulante se recuperan completamente en 3 a 12 meses. El término brucelosis crónica debe reservarse a pacientes cuya enfermedad lleve un período de evolución mayor de seis meses. (8)

Pocas personas se enferman de forma crónica; pueden presentarse recaídas meses después de la aparición de los primeros síntomas, aun en los casos tratados con éxito. Las reacciones de hipersensibilidad pueden ocultar los síntomas de brucelosis. (34)



En ocasiones se observan complicaciones, especialmente en la forma ondulante y crónica. Las más comunes son artritis, espondilitis, epidídimo-orquitis y fatiga crónica. Los signos neurológicos aparecen hasta en un 5% de los casos pueden incluir cambios en la personalidad, meningitis, encefalitis y neuropatía periférica. La complicación más grave es la endocarditis, que con frecuencia es la causa de muerte. (34)

2.2.3. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo y confirmativo se basa en pruebas de laboratorio. Se considera que el método más confiable para el diagnóstico de una enfermedad infecciosa es el aislamiento e identificación del agente etiológico. En el caso de *Brucella*, el aislamiento e identificación del microorganismo se debe hacer siempre mediante hemocultivo, estos procedimientos son lentos (de una a cuatro semanas), tediosos, poco exitosos, y por su contagiosidad, de gran riesgo para la salud de los profesionales encargados del estudio. Por estas razones, el



examen bacteriológico no siempre es practicable, lo que hace que el diagnóstico se realice generalmente por métodos serológicos rápidos relativamente fáciles de aplicar. (37)

El diagnóstico serológico es el que se realiza de rutina, pero la interpretación de los resultados presenta dificultades. De hecho, el gran número de técnicas en uso es un reflejo de los problemas que presenta. El test de aglutinación rápida BPA (Antígeno Tamponado en Placa) se utiliza como prueba tamiz. En el hombre se utilizan los antígenos de Huddleson y Rosa de Bengala para realizar el diagnóstico serológico mediante la aglutinación rápida en placa. Las pruebas complementarias: P. de Wright y 2-ME, se realizan en aquellas muestras que fueron positivas al BPA, Huddleson y/o Rosa de Bengala. (1)

Estas pruebas clásicas están siendo suplantadas por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) indirectos y ELISA de competición y pruebas de polarización fluorescente. (1)



La brucelosis crónica puede ser extremadamente difícil de diagnosticar, si los resultados de las pruebas serológicas son confusas y el organismo no puede cultivarse. (34)

2.2.4. Tratamiento

Los antibióticos son en general la base del tratamiento; es posible que se requiera un tratamiento prolongado. Algunas formas de enfermedad localizada, como endocarditis, pueden requerir cirugía. La OMS recomienda, para brucelosis aguda en adultos, Rinfampicina 600 a 900 mg y Doxacilina 200mg por un mínimo de 6 semanas. (39)

2.2.5. Arma Biológica y desarrollo de vacuna humana

Actualmente no existen vacunas humanas autorizadas en Europa ni en USA. Existen sin embargo datos clínicos limitados sobre una cepa de vacuna viva atenuada obtenida en la antigua Unión Soviética y en China. Debido a la frecuencia de efectos adversos y a la corta duración de la



inmunidad, parece ser que fue utilizada solo durante un corto periodo de tiempo. (24)

El verdadero interés actual en la especie *Brucella* sp. Se debe a su posible uso como arma biológica. (24) Las brucelas son patógenos altamente potentes en el hombre y los animales y como tales, agentes biológicos también muy eficaces para uso en armas biológicas. Se transmiten fácilmente a los seres humanos a través de aerosoles lo que hacen de estas bacterias más atractivas para los investigadores militares. (17)

Los esfuerzos internacionales de desarme hacen poco probable que las armas biológicas de destrucción masiva sean utilizadas por los ejércitos de los estados en guerras de hoy en día. Sin embargo, han surgido temores de que las armas biológicas pueden ser utilizados contra objetivos civiles por parte de las organizaciones privadas, grupos e incluso individuos en ataques de bioterroristas. (17)



Se estima que solo 10 a 100 microorganismos son suficientes para constituir una dosis de aerosol infeccioso para los humanos. Aunque es sensible a desinfectantes, puede vivir en el ambiente durante más de 2 años en determinadas condiciones constituyendo así un peligro para humanos y animales. (24)

Rotzet., et.al (2002) hizo una evaluación del riesgo de un brote de brucelosis con especial respeto por su influencia en la salud pública y la infraestructura médica a gran escala, utilizando los siguientes criterios: impacto en la salud pública, la entrega potencial de grandes poblaciones, la percepción del público, es decir, el temor público y la sociedad civil trastornos y necesidades especiales de preparación de salud pública. La brucelosis fue clasificado en la categoría B sólo tiene un impacto inferior médico y público. (17)

En 1954, *B. suis* fue el primer agente considerado para bioterrorismo por los Estados Unidos y otros países. Pero *Brucella sp*, y particularmente *B. mellitensis* y *B. suis*, no



fueron considerados como importantes, pues el periodo de incubación es mas bien largo, muchas infecciones son asintomáticas y la mortalidad es baja. Sin embargo el agente podría ser utilizado más bien como un agente incapacitante puesto que la enfermedad se asocia a una elevada morbilidad combinada con una clínica de postración, que mantendrían a una población afectada, a merced de unos potenciales invasores, o permitiría la comisión de actos terroristas con total impunidad y con escasas posibilidades de contrarrestar la acción ofensiva.

(24)

En el campo de la salud pública veterinaria, el peligro que representan el agroterrorismo (la deliberada manipulación y / o contaminación de los alimentos con la intención de perjudicar el desarrollo social, económico, físico, psicológico y el bienestar de la sociedad) es motivo de preocupación. Los blancos pueden ser animales de granja (vacas, cerdos, ovejas, caballos, aves y peces), cultivos extensivos, alimentos procesados y las instalaciones de almacenamiento. Los países son libres de brucelosis animal



puede sufrir graves pérdidas económicas por la introducción deliberada de la brucelosis en el ganado bovino, ovino / caprino o porcino. (17)

Una vacuna humana permitiría no solo la prevención de la enfermedad en grupos de población expuestos a *Brucella* sp., sino el control de brotes epidémicos, si la vacuna se adelanta a la aparición de la clínica, dado el periodo de incubación, y por supuesto, esa hipotética vacuna podría ser utilizada por las fuerzas armadas en caso de riesgo de ataque biológico. (24)

Subunidades candidatas a vacuna están siendo estudiadas. Una de ellas la vacuna combinada contra ántrax y brucelosis utilizando un promotor (*Brucella* GroE) y el plásmido pBBR4MCS para producir la cepa de *B. mellitensis* WR201PA y WRSPA. Dichas cepas han mostrado eficacia y seguridad continuándose los ensayos como candidatas a una vacuna contra ántrax y brucelosis. Otros investigadores del ejército de los Estados Unidos, trabajan para la consecución de una vacuna para ser



inoculada en la mucosa nasal. Se halla aún en fase experimental en primates. (24)



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Materiales de campo

3.1.1.1. Materiales físicos

- Overol
- Botas
- Guantes
- Tubos vacutainer 10 ml
- Tubos eppendorf de 1.5 ml
- Agujas vacutainer
- Capsulas vacutainer
- Jeringas 10ml
- Termo refrigerante
- Algodón
- Gradilla
- Gel refrigerante
- Etiquetas



- Equipo para sujeción de animales (sogas, nariguera)
- Cámara fotográfica
- Mochila

3.1.1.2. Materiales químicos

- Alcohol

3.1.1.3. Materiales biológicos

- Bovinos
- Sangre – suero.

3.1.2. Materiales de Laboratorio

3.1.2.1. Materiales físicos

Para “Rosa de Bengala”

- Micropipetas monocanal de precisión a volumen fijo o variable adecuadas para dispensar 30, 10-100 µl.



- Placas de vidrio cuadrículado (consta de 72 cuadrículas).
- Aglutinoscopio con fondo oscuro y luz blanca
- Refrigeradora de 0 °C a 4 °C
- Congelador de -20 °C
- Agitador de tubos (vórtex)
- Micropipeta monocanal ajustable de 5 µl a 50 µl.
- Centrifuga para 25 tubos de 10 a 15 cc.
- Termoregistradores tipo Rogget con conexión USB
- Termoregistradores de ambiente
- Cronómetro de laboratorio (Timer).
- Punteras de pipetas desechables para micropipetas volumen 10-100 µl.
- Rack's para punteras
- Fundas de autoclavado volumen variable
- Basureros con identificación de basura común y de riesgo biológico.
- El gotero incluido proporciona una gota de 30-40 µl.
- Palillos de madera (mondadientes) o peinetas.
- Crioviales



Para “Elisa de competencia”

- Micropipetas monocanal de precisión a volumen fijo o variable adecuadas para dispensar 1, 10, 100 y 200 μ l.
- Micropipetas multicanal de precisión a volumen fijo o variable adecuadas para dispensar 10, 100 y 300 μ l.
- Agitador de placas con temperatura y cronómetro regulable.
- Centrifuga para 25 tubos de 10 a 15 cc.
- Lector de ELISA Multicanal equipado de filtros de 450 y 650 nm.
- Lavador de placas automático, semiautomático o manual.
- Canaletas plásticas para dispensar soluciones.
- Balanza Analítica calibrada
- Refrigeradora de 0 °C a 4 °C
- Congelador de -20 °C
- Agitador de tubos (vórtex).
- Termoregistradores tipo Rogget con conexión USB



- Termoregistradores de ambiente
- Planchas de calentamiento con sistema de agitación.
- Cronómetro de laboratorio (Timer).
- Punteras de pipetas desechables para micropipetas y de volumen variable.
- Rack's para punteras
- Probeta graduada de 500 ml para la preparación de la solución de lavado.
- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Pipeta graduada de 25 ml
- Pipetas graduada de 10 ml sin clase
- Erlenmeyer de 300 ó 500 ml
- Tubos o placas plásticas para dilución de muestras con vol. de hasta 500 μ l.
- Fundas de autoclavado volumen variable
- Basureros con identificación de basura común y de riesgo biológico
- Vasos de precipitación de 50, 100 ml
- Magnetos para agitación de diluciones.



- Crioviales

3.1.2.2. Materiales químicos

Para “Rosa de Bengala”

- Reactivo de Rosa de Bengala
- Suero de referencia o control positivo
- Suero de referencia o control negativo

Para “Elisa de competencia”

- Microplacas tapizadas con el lipopolisacárido liso (LPS) de *Brucella abortus*.
- Solución mAb (Anticuerpos monoclonales ratón) liofilizada, para reconstituir.
- Conjugado HRP listo para usar. (HRP Conjugate)
- Solución de lavado concentrada (PBS – Tween solution 20 X.)
- Solución Sustrato (Substrate solution)
- Solución Buffer para dilución (Sample dilution Buffer)



- Solución de parada. (STOP solution)
- Control positivo (Positive control serum)
- Control negativo (Negative control serum)
- Control débil positivo (Weak Positive control serum)

3.1.2.3. Materiales biológicos

- Suero bovino

3.1.3. Materiales de escritorio

- Hojas de campo
- Papel (cuadernos)
- Esferográficos (bolígrafos)
- Computadora equipada con hardware y software
- Calculadora



3.2. Métodos

3.2.1. El área de estudio

Este estudio se realizó en el cantón Limón Indanza de la provincia de Morona Santiago.

Ubicación Geográfica:

- Provincia: Morona Santiago
- Cantón: Limón Indanza
- Parroquias:
General Leónidas Plaza
Gutiérrez
Indanza
San Antonio
San Miguel de Conchay
Santa Susana de Chiviaza
Yunganza
- Ubicación:
2°57'0"S 57°27'36"O



- Altitud: 1100msnm
- Superficie: 2.101,42 km²
- Clima: subtropical húmedo
- Temperatura: 18-24°C

Fuente: Ilustre Municipio de Limón Indanza

3.2.2. Metodología para la investigación experimental.

Factor de Estudio

- Establecer la frecuencia de brucelosis en el ganado bovino del cantón Limón Indanza, frente a cuatro variables: sexo, edad, procedencia y sistema de reproducción.

3.2.3. Método de campo

Las muestras de sangre bovina se obtuvieron de la vena yugular a través de tubos “vacutainer” al vacío, sin anticoagulante; luego de recolectar 9ml se etiquetaron y



almacenaron inmediatamente en los termos refrigerantes, para su transporte hasta Limón Indanza.

Seguidamente las muestras fueron llevadas hasta el laboratorio del Hospital Básico Limón Área 3, en donde se las sometió a centrifugación durante 5 minutos, para extraer el suero que fue depositado en los tubos eppendorf de 1.5 ml, los cuales se los almacenaron hasta su utilización.

3.2.4. Método de laboratorio

Las muestras de suero fueron transportados a los laboratorios veterinarios de Agrocalidad, ubicados en la ciudad de Quito (parroquia Tumbaco) para su respectivo análisis, se las sometió a la prueba tamiz “Rosa de Bengala” aquellas muestras que resultaron positivas y sospechosas a esta prueba se las aplicó la prueba confirmatoria “ELISA de competencia”, para determinar su estado con respecto a Brucelosis.



3.2.4.1. Rosa de Bengala

Preparación de reactivos:

- a) El antígeno de RB (Rosa de Bengala) se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 4°C a 8°C, evitando su congelación ya que se inutilizaría para la prueba.
- b) Tanto el antígeno como el suero se mantuvieron a temperatura ambiente por lo menos hasta una hora antes de realizar la prueba.
- c) Los goteros se lavaron con agua destilada al terminar la jornada de trabajo.
- d) El Reactivo de RB: se sacó del refrigerador y se equilibró a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C al menos una hora antes de ser utilizado.
- e) Las muestras y sueros control: se sacaron de la refrigeradora y se equilibraron a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C.
- f) Una vez que temperamos el reactivo de RB se agitó suavemente el frasco antes de utilizarlo para que las bacterias se re-suspendan.



Procedimiento:

- a) Reactivo de RB: se sacó de la refrigeradora y se equilibró a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C al menos una hora antes de utilizarlo.
- b) Muestras y sueros control: se sacaron de la refrigeradora y se equilibraron a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C.
- c) Una vez temperado el reactivo de RB se agitó suavemente el frasco antes de su utilización para que las bacterias se re-suspendan.
- d) Quitamos el tapón al frasco del reactivo de RB y lo colocamos en el gotero calibrado.
- e) Depositamos sobre una placa cuadrículada de vidrio 30 µl del suero a probar y también 30 µl del antígeno de Rosa de Bengala (1 gota). Anotamos la fecha de la ejecución del ensayo, número de protocolo y las muestras a analizar en LANASEVE-PT-001-RE-001 Hoja de Trabajo para Rosa de Bengala (RB).



- f) Mezclamos cuidadosamente el suero con el antígeno de RB utilizando un palillo de madera por muestra o una peineta.
- g) Agitamos la placa en forma rotativa y lentamente, luego incubamos a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C durante exactamente 4 minutos de forma manual o en agitador de placas.
- h) Realizamos el mismo protocolo anteriormente descrito, para los sueros control positivo y negativo.
- i) Registramos resultados en LANASEVE-PT-001-RE-001 Hoja de Trabajo para Rosa de Bengala (RB).

Tratamiento de resultados:

- a) **Positivas y Sospechosas:** Cuando se forman grumos, aun siendo finos (no confundir con aglutinaciones inespecíficas producidas por impurezas, hemólisis, etc.). Estas muestras deben someterse a las pruebas confirmatorias.



b) **Negativas:** Cuando la mezcla suero-antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos. Estas muestras son negativas y no se realizan las pruebas complementarias.

Informe de Resultados:

Formulario para reporte de Resultados de Brucelosis.

3.2.4.2. Elisa de competición

Preparación de reactivos:

- a) Preparación de la Solución de Lavado: diluir la solución concentrada PBS-Tween 20x con agua destilada según la cantidad necesaria. Ejemplo: 25ml de PBS-Tween 20x en 475 ml de agua destilada, mezclar.
- b) Preparación de la solución mAb: reconstituir el mAb liofilizado con 6 ml de la solución buffer para dilución. Mezclarlo suavemente, NO USAR VORTEX.
- c) Dilución de las muestras y controles directamente en la placa.



- d) Antes de utilizar los reactivos ponerlos a temperatura ambiente, dos horas y homogenizarlos agitando moderadamente.
- e) Reservar el número de microplacas tapizadas necesarias para el análisis y establecer el plan de distribución de las muestras con ayuda del formulario LX/FOR/039 “Template ELISA” Como se detalla a continuación.

Cuadro 5: Distribución de las muestras y controles en los pocillos de la placa.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	M 1	M 9									
B	CP	M 2	M 10									
C	CN	M 3									
D	CN	M 4									
E	dP	M 5									
F	dP	M 6									
G	Cc	M 7									
H	Cc	M 8									

Fuente: Sandoval Valencia, Patricio. Procedimiento PED/LSA-B/002: Procedimientos específicos de



diagnóstico de brucelosis bovina por la técnica de ELISA Competitivo.

- a) Colocar 45 μ l de solución buffer para dilución en cada uno de los pocillos que van a ser usados tanto para controles como para muestras.
- b) Los controles que se van a procesar son: Control POSITIVO, débil POSITIVO, Negativo y control de conjugado.
- c) Adherir 5 μ l de suero control POSITIVO (CP), débil POSITIVO (dP) y Negativo (CN) en cada uno de los respectivos pocillos antes mencionados con la pipeta de volumen variable según los lineamientos del proceso operativo LX/POE/034 “Utilización de pipeta automática de volumen variable”. Correr los controles por duplicado.
- d) Adherir 5 μ l de la solución buffer para dilución en los dos pocillos designados para el control de conjugado (Cc) con la pipeta de volumen variable según los lineamientos del proceso operativo LX/POE/034



“Utilización de pipeta automática de volumen variable”.

- e) Adherir 5 μ l de las muestras (M1, M2...) de suero a analizar en cada uno de los pocillos designados con la pipeta de volumen variable según los lineamientos del proceso operativo LVX/POE/034 “Utilización de pipeta automática de volumen variable”.

Procedimiento:

- a) Para cada uno de los pasos en que haya que añadir un reactivo se debe utilizar la pipeta automática multicanal según el POE LVX/POE/028 (Utilización de pipeta automática multicanal).
- b) Adherir 50 μ l de la solución mAb en cada uno de los pocillos usados tanto en controles como en muestras de suero.
- c) El tiempo de diferencia entre controles/muestras y la adición de la solución mAb no debe exceder los 10 minutos.



- d) Tapar la placa y llevarla al lector de ELISA, en la opción de mezcla durante 5 minutos.
- e) Incubar a temperatura ambiente (18 - 25° C) durante 30 minutos.
- f) Pasado el tiempo de incubación lavar la placa con solución de lavado (numeral 4.5) cuatro veces, secándola con golpes fuertes sobre papel toalla para absorber finalmente todo su contenido.
- g) Adherir 100 µl de Conjugado HRP en cada uno de los pocillos. Tapar la placa e incubar a temperatura ambiente (18 - 25° C) durante 30 minutos.
- h) Pasado este tiempo de incubación repetir el lavado como se indica en el numeral
- i) Adherir 100 µl de solución sustrato en cada pocillo e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (18 - 25° C). Activar el tiempo del cronómetro desde que se añade el sustrato en el primer pocillo.
- j) Finalmente añadir 50 µl de la solución de interrupción en cada uno de los pocillos en el mismo orden en que se colocó la solución sustrato y mezclar suavemente.



- k) Medir las densidades ópticas (DO) en Lector para ELISA a 450 nm siguiendo los lineamientos del POE LVX/POE/025 (Lector de Elisa Multicanal). Tener la precaución de leer la placa durante los primeros 15 minutos después de haber añadido la solución de interrupción.
- l) Calcular los resultados en la hoja de cálculo diseñada específicamente para la prueba de Brucella por la técnica Elisa Competitivo, en Excel en el archivo LIVEX 2008, cálculos, que se encuentra en la PC de LIFEX, o a su vez de forma manual.

Tratamiento de Resultados:

El test es válido si los controles se encuentran en los siguientes límites.

Cuadro 6: Límites de controles

OD	Control	del	0,75-2,0
Conjugado			
PI Control Positivo			90-110



PI Control Positivo Débil	35- 65
PI Control Negativo	-10- 15

Fuente: Sandoval Valencia, Patricio. Procedimiento PED/LSA-B/002: Procedimientos específicos de diagnóstico de brucelosis bovina por la técnica de ELISA Competitivo.

Si el test según alguno de los parámetros anteriores resultara inválido, se debe repetir el ensayo.

Clasificación de muestras:

Para clasificar una muestra como positiva o negativa seguir el siguiente parámetro.

Cuadro 7:Parámetros para clasificar la muestra.

PI	ESTATUS
< 30 %	NEGATIVA
>= 30 %	POSITIVA

Fuente: Sandoval Valencia, Patricio. Procedimiento PED/LSA-B/002: Procedimientos específicos de diagnóstico de brucelosis bovina por la técnica de ELISA Competitivo.



Tanto el valor de densidad óptica del control de conjugado como el PI de los controles positivos y Negativos pueden variar según el número de lote, por lo que se recomienda verificar estos valores en el inserto que viene con el kit.

Calcular el porcentaje de inhibición (PI), tanto de los controles positivos, como Negativo, usando la siguiente fórmula.

$$PI = 100 - \frac{(\text{Promedio de D.O muestras/controles})}{(\text{Promedio D.O control de conjugado Cc})} \times 100$$

Informe de Resultados:

- Los resultados obtenidos se reportan en el formulario LVX/FOR/006 “Resultados de análisis por la técnica de ELISA el cual está diseñado para dicha prueba.
- Por medio de la técnica ELISA competitivo para *Brucella abortus*, valores de PI = a 30 se consideran positivos a anticuerpos contra *Brucella abortus* indicando que el animal está infectado.



3.2.5. Método estadístico

3.2.5.1. Población

La población bovina del cantón Limón Indanza es de 26.299 según la base de datos de la Comisión Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa (CONEFA), Región 4 del año 2011, distribuidos en 840 fincas dentro del cantón, de los cuales 20896 (corresponde a un número de animales mayores a 1 año de edad) conforman la población de estudio.

3.2.5.2. Muestra

El tipo de muestreo que se realizó fue por áreas o conglomerados y al azar, basándonos en los datos de los registros de la Comisión Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa (CONEFA), Región 4 del año 2011.



3.2.5.3. Diseño experimental

- Las pruebas estadísticas propuestas para este estudio fueron:

1. Medidas de Tendencia central y dispersión de datos.
2. t Student
3. Chi Cuadrado (X^2)
4. Cuadros y Figuras

- Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la siguiente formula:

$$n = \frac{Z^2 pqN}{Ne^2 + Z^2 pq}$$

En donde:

- Población Total: 26229
- N (Población de estudio): 20892
- error: 5%
- Z: 1.96 (95% de confiabilidad)



- q: (1-p)
- p: 0.2 (probabilidad de casos positivos en la población)²

$$n = \frac{(1.96)^2(0.2)(1-0.2)(20896)}{(20896)(0.05)^2 + (1.96)^2(0.2)(1-0.2)}$$

$$n = \frac{(3.8416)(0.2)(0.8)(20896)}{(20896)(0.0025) + (3.8416)(0.2)}$$

$$n = \frac{(3.8416)(0.16)(20896)}{(52.24) + (0.614656)}$$

$$n = \frac{12843.85178}{52.854656}$$

$$n = 243$$

n: a la muestra de 243 le añadimos 2 animales con el fin de generar una distribución proporcional de hembras y machos, garantizando la equivalencia proporcional para cada animal en números enteros. Quedando un valor de la muestra de 245 animales.

² Lourdes Münch, Ernesto Ángeles. 2002. Métodos y técnicas de investigación.



- Tomando en cuenta la proporción de machos y hembras del total de la población, la muestra total de hembras es de 175, mientras que la de los machos es de 70, dando una proporción de 2,5 hembras para cada macho. En vista de que cada animal compone una unidad, se duplica este valor, resultando una relación lógica de 5 hembras para cada 2 machos.³
- Al mantener la relación anterior, de 5 hembras para cada 2 machos, se genera automáticamente una muestra de 7 bovinos para cada UPA. En consecuencia, al dividir 245 animales para 7, se obtiene una muestra de 35 fincas.
- Para obtener el número de muestras por parroquia se realizó el siguiente cálculo proporcional al número de animales por parroquia:

$$(35 \times 100)/840 = 4.167 = 4,2$$

³Registros de la Comisión Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa (CONEFA), Región 4 del año 2011.



Cuadro 8: Número de muestras por parroquia

Parroquias	Fincas	Muest ra	%
General Leonidas Plaza Gutiérrez	237	10	4,2
Indanza	108	5	4,2
San Antonio	107	4	4,2
San Miguel de Conchay	140	6	4,2
Santa Susana de Chiviaza	179	7	4,2
Yunganza	69	3	4,2
Total	840	35	

Fuente: Autores

- Las fincas de cada área (parroquia) fueron tomadas al azar mediante un sorteo.
- Los animales muestreados fueron tomados de las fincas al azar, y encontrados dentro de la edad concerniente.



Cuadro 9: Número de animales y fincas seleccionados para el muestreo y porcentajes de machos y hembras a muestrear.

Parroquias	Fincas	Hembras	Machos	Total	Porcentaje Machos	Porcentaje Hembras	Porcentaje Total
Gral. Leónidas Plaza Gutiérrez	10	50	20	70	8,16	20,41	28,57
Indanza	5	25	10	35	4,08	10,20	14,29
San Antonio	4	20	8	28	3,27	8,16	11,43
San Miguel de Conchay	6	30	12	42	4,90	12,24	17,14
Santa Susana de Chiviaza	7	35	14	49	5,71	14,29	20,00
Yunganza	3	15	6	21	2,45	6,12	8,57
Total	35	175	70	245	28,57	71,43	100,00

Fuente: Autores.



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a que no se encontró ningún caso positivo no se realizaron análisis estadísticos. Por lo tanto solo expondremos cuadros y figuras demostrativas.

4.1. Cuadros estadísticos demostrativos

Cuadro 10: Resultados de los análisis de *Brucella abortus* en la población bovina en el cantón Limón-Indanza: casos positivos y negativos.

PARROQUIAS	Muestras	Casos Positivos	Casos Negativos
Gral. Leonidas Plaza Gutiérrez	70	0	70
Indanza	35	0	35
San Antonio	28	0	28
San Miguel de Conchay	42	0	42
Santa Susana de Chiviaza	49	0	49
Yunganza	21	0	21
TOTAL	245	0	245

Fuente: Autores.

Del cuadro No 10 se deduce que no se presentaron casos positivos a Brucelosis bovina.



Cuadro 11: Frecuencia de Brucelosis bovina en hatos del cantón Limón Indanza.

PARROQUIAS	Machos			Hembras			Subtotal		TOTAL
	Positiv os	Negativ os	Subtot al	Positiv os	Negativ os	Subtot al	Positiv os	Negativ os	
Gral.Leonidas	0	20	20	0	50	50	0	70	70
Plaza Gutiérrez	0	10	10	0	25	25	0	35	35
Indanza	0	8	8	0	20	20	0	28	28
San Antonio	0	12	12	0	30	30	0	42	42
San Miguel de	0	14	14	0	35	35	0	49	49
Conchay	0	6	6	0	15	15	0	21	21
Santa Susana de									
Chiviaza									
Yunganza									
TOTAL	0	70	70	0	175	175	0	245	245

Fuente: Autores.

Como se puede observar el cuadro 11, el total de los 245 bovinos entre machos y hembras, sometidos a los análisis de laboratorio, fueron negativos.



Cuadro 12: Frecuencia de Brucelosis bovina en el cantón Limón Indanza según el sistema de reproducción.

PARROQUIAS	Monta Natural		Inseminación Artificial		Mixta		TOTAL
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos	
Gral. Leonidas Plaza Gutiérrez	0	50	0	0	0	0	50
Indanza	0	25	0	0	0	0	25
San Antonio	0	19	0	0	0	0	19
San Miguel de Conchay	0	30	0	0	0	0	30
Santa Susana de Chiviaza	0	20	0	0	0	2	22
Yunganza	0	15	0	0	0	0	15
TOTAL	0	159	0	0	0	2	161

Fuente: Autores

En el cuadro 12 se observa la muestra según los sistemas de reproducción utilizados por los ganaderos del cantón Limón Indanza, tanto Inseminación artificial, Monta Natural y Mixta, no se tuvieron casos positivos.



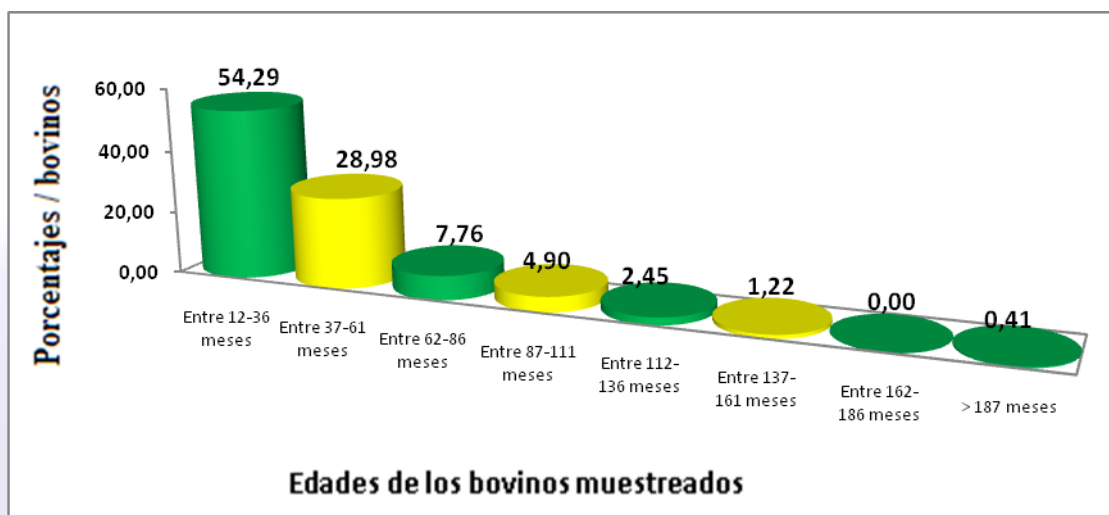
Cuadro 13: Frecuencias proporcionales de bovinos muestreados según la edad.

RANGO DE EDADES	Nº de Animales	%
Entre 12-36 meses	133	54,29
Entre 37-61 meses	71	28,98
Entre 62-86 meses	19	7,76
Entre 87-111 meses	12	4,90
Entre 112-136 meses	6	2,45
Entre 137-161 meses	3	1,22
Entre 162-186 meses	0	0,00
> 187 meses	1	0,41
TOTAL	245	100

Fuente: Autores.



Figura 10: Frecuencias proporcionales de bovinos muestreados según la edad.



Fuente: Autores.

En el cuadro 13 y Figura.10, se observa que el 54.29% representa a bovinos que están comprendidos entre las edades de 12-36 meses, el 28.98% representa animales entre las edades de 37-61 meses, el 7.76% representa animales entre las edades de 62-86 meses, un 4.9% representa animales entre las edades de 87-111 meses, el 2.45% representa animales entre las edades de 112-136 meses, un 1.22% representa animales entre las edades de 137-161 meses, entre los 162-186 meses no hubo animales muestreados y bovinos muestreados mayores a 187 meses son el 0.41%; todos los casos analizados fueron negativos a la brucelosis.



Cuadro 14: Bovinos vacunados y no vacunados contra la *Brucella abortus* en las parroquias del cantón Limón Indanza.

PARROQUIAS	Vacunación		Proporciones	
	Vacunados	No Vacunados	% No vacunados	% Vacunados
Gral. Leonidas Plaza Gutiérrez	0	70	28,57	0
Indanza	0	35	14,29	0
San Antonio	0	28	11,43	0
San Miguel de Conchay	0	42	17,14	0
Santa Susana de Chiviaza	0	49	20,00	0
Yunganza	0	21	8,57	0
TOTAL	0	245	100,00	0

Fuente: Autores.

Como se observa en el cuadro 14, en las ganaderías del cantón Limón Indanza no se aplica la vacuna para prevenir la Brucelosis bovina.



5. CONCLUSIONES

De la presente investigación se concluye lo siguiente:

1. En el cantón Limón Indanza, provincia de Morona Santiago de 245 muestras de suero bovino sometidos a la prueba tamiz Rosa de Bengala, 5 muestras resultaron positivas y 8 fueron consideradas casos sospechosos. A las pruebas positivas y sospechosas se les aplicó la prueba confirmatoria ELISA de competición dando resultados negativos a la misma, en consecuencia no se presentó ningún caso positivo a brucelosis, en el periodo Mayo-Julio del 2012, por lo cual en la presente investigación se tuvo una seroprevalencia del 0%.
2. De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación se acepta la hipótesis nula “En el cantón Limón Indanza no existe un incremento de prevalencia de brucelosis bovina; en relación a los



datos obtenidos en 1988 en la tesis de grado de Castro R. Edgar y Zhunio L. René.”

3. Los ganaderos incluidos en la investigación tenían conocimientos limitados de la enfermedad, razón por la que no aplican biológicos para su prevención.
4. Por el difícil acceso a las fincas y en la mayoría, la inexistencia de vías carrozables hay un limitado flujo de movilización, sobre todo el ingreso de ganado desde otras provincias; factor que consideramos determinante para la no aparición de la enfermedad.
5. Para mejorar genéticamente las ganaderías, los productores se proveen de bovinos de fincas vecinas y del cantón; elemento importante que también nos indica que no existe contacto directo con las ganaderías de regiones endémicas a Brucelosis.



6. RECOMENDACIONES.

1. Al no existir la enfermedad en la zona, debe implementarse un programa de concientización y capacitación en el sector ganadero sobre la importancia de prevenir la enfermedad mediante el uso de biológicos.
2. Promover el apoyo de instituciones cantonales y provinciales para implementar un calendario sanitario de vacunación en terneras de 3-9 meses de edad en todo el cantón.
3. Utilizar en planes futuros de reproducción, semen certificado para inseminación artificial con el objeto de evitar la introducción de Brucelosis a las ganaderías del cantón.
4. Solicitar a Agrocalidad ponga en funcionamiento la estación cuarentenaria ubicada en el sector Plan de Milagro e incorpore otra en la vía Guarumales-Méndez; a objeto de que se realice una vigilancia



epidemiológica permanente del flujo de movilización de animales provenientes de otras regiones del país.



7. RESUMEN

La presente investigación intitulada “Prevalencia de Brucelosis bovina en el cantón Limón Indanza provincia de Morona Santiago” se ejecutó como tesis de grado por 2 estudiantes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Cuenca.

Esta investigación se llevó a cabo en las 6 parroquias del cantón Limón Indanza, muestreando 35 fincas ganaderas seleccionadas al azar; en cada una de ellas se tomaron 7 muestras de sangre formadas por 5 hembras y 2 machos en edades mayores a 1 año, dando una muestra total de 245 bovinos. Utilizando como prueba tamiz para el diagnóstico Rosa de Bengala y como prueba confirmatoria ELISA de Competencia. De esta manera se conoció la situación actual de la enfermedad en el cantón, ya que en el año 1988, en la tesis de grado de Castro R. Edgar y Zhunio L. René, se obtuvo una prevalencia del 0.22%, lo que justifica la investigación presente.



El método de campo comprendió la extracción de sangre de la vena yugular directamente en tubos al vacío “vacutainer”, los cuales se colocaron inmediatamente en termos refrigerantes para el transporte, previa rotulación y recolección de datos. En los laboratorios del Hospital Básico de Limón Área 3, se realizó el centrifugado obteniendo el suero sanguíneo.

La aplicación de las pruebas se realizó en los laboratorios veterinarios de Agrocalidad (localizados en la ciudad de Quito, parroquia Tumbaco), utilizándose la prueba Rosa de Bengala como prueba tamiz, se aplicó a todos los positivos y sospechosos la prueba ELISA de competencia como prueba confirmatoria

Concluidos los análisis de laboratorio no se presentaron casos positivos por lo tanto se obtuvo una sero-prevalencia del 0%.

Durante la investigación se observó detalles distintivos que nos hacen suponer la ausencia de la enfermedad en el cantón: La aplicación de biológicos para prevenir la



enfermedad no se efectúa, el método de reproducción empleado en las ganaderías es exclusivamente la monta natural de todos los bovinos hembras muestreadas solo 2 fueron inseminadas en el último celo.

No existe una movilización notable de ganado proveniente de otras provincias u otros cantones, las ganaderías se abastecen de reproductores, pie de cría y animales en general para su hato, de ganaderías o fincas vecinas o dentro del mismo cantón.



8. SUMMARY

This study entitled "Prevalence of bovine brucellosis in the Limón Indanza city, province of Morona Santiago" was implemented as thesis by two students of the career of Veterinary Medicine in the University of Cuenca.

This research was conducted in six parishes from Limón Indanza, sampling 35 randomly selected cattle farms, in each of which took seven blood samples consisting of 5 females and 2 males at ages greater than one year, giving a total sample of 245 cattle. Using as a screening test for the diagnosis and Rose Bengal as a confirmatory test for Competition ELISA. In this way, the researchers met the current disease situation in the area, as in 1988. In this thesis, R. Castro Edgar and L. Zhunio René showed that it had a prevalence of 0.22% of brucellosis. This is the background which justifies the present investigation.

The field method involved the removal of blood from the jugular vein directly into vacuum tubes "vacutainer", which were immediately placed in coolers for transport flasks, after labeling and data collection. In the laboratories of the Basic



Hospital Area 3 from Limón Indanza, was performed a centrifugation to obtain the serum.

The application of the tests performed on Agrocalidad Veterinary Laboratories (located in Quito city, Tumbaco parish) using the Rose Bengal test as screening test. Then, there was applied to all suspected and positive cases the ELISA test as proof of competence confirmatory

Laboratory analysis concluded there were no positive cases therefore had a sero-prevalence of 0%.

During the investigation it was found several details that made the researchers to suppose the absence of the disease in the area. The application of biological disease prevention is not used; the playback method is used exclusively for farming natural. Only 2female cattle were inseminated in the last heat.

There is no significant movement of livestock from other provinces or other towns, supplying farms are breeding, breeding stock and animals in general for their herd, herds or neighboring farms or within the same county.



9. BIBLIOGRAFÍA

1. **Arestegui, Mirta B. y Gualtieri, Catalina.** Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Veterinarias. Brucelosis Bovina. [En línea] [Citado el: 20 de Noviembre de 2012.]
<http://www.fveter.unr.edu.ar/Objetos/Sueros/Brucelosis%20Bovina.doc>
2. **ASOCEBU.** Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Cebú. Información Brucelosis. [En línea] [Citado el: 18 de Noviembre de 2012.]
<http://www.asocebu.com/getdoc/e169e44a-5f8c-4ce7-a76f-e3858c3ca887/Informacion-Brucelosis.aspx>
3. **Avila Garcia, Jorge Hernández , Cruz y Georgia Elizabeth.** 2008. UNAM. Enfermedades Abortivas: Clínica de los bovinos I. [En línea] 2008. [Citado el: 02 de Febrero de 2013.]
http://fmvzenlinea.fmvz.unam.mx/file.php/67/Unidad_5/Enfermedades_Abortivas.pdf.
4. **Cabrera Pérez, Carmelo; Silvia Cabrera, Eladio; Izquierdo Márquez, Maricela; García Montero, Consuelo D.** Empleo del Elisa DAVIH BRU 2 en el diagnóstico serológico de la Brucelosis Bovina. 2005. 5, Málaga: s.n., 2005, REDVET, Vol. VI. ISSN 1695-7504.



5. **Cano Celada, José Pedro y Camacho González, Linda A.** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Museo de Anatomopatología. Brucelosis Bovina. [En línea] [Citado el: 6 de Noviembre de 2012.]
<http://fmvz.freeiz.com/fmvz/departamentos/rumiantes/archivos/BRUCELOSIS%20BOVINA.doc>.
6. **Casas, Olascoaga Raúl.** 2008|. Revistasmvu. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay. [En línea] Abril - Junio de 2008|. [Citado el: 21 de Noviembre de 2012.]
<http://www.revistasmvu.com.uy/revistas/numero170.pdf> f.
7. **Cassataro, Juliana; Pasquevich, Karina A.; Estein, Silvia; Zwerling, Astrid; Fossati, Carlos A.; Goldbaum, Fernando A.; Giambartolomei, Guillermo H.** 2006. Scientific Electronic Library Online. Nueva vacuna contra la brucelosis. [En línea] Enero-Marzo de 2006. [Citado el: 25 de Noviembre de 2012.]
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=s0325-29572006000100014&script=sci_arttext. ISSN 1851-6114.
8. **Castro, Hugo Abel, Gonzáles, Sofia Raquel y Prat, María Inés.** 2005. SciELO. Inmunología: Brucelosis una revisión práctica. [En línea] Universidad Nacional del Sur, Junio de 2005. [Citado el: 5 de Noviembre de 2012.]



http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0325-29572005000200008.ISSN 1851-6114.

9. **DIGESEGA.** 2009. Manual de Procedimiento de Vacunación con RB 51. [En línea] 09 de Febrero de 2009. [Citado el: 05 de Febrero de 2013.] http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Resoluciones/Res185_270809/3_ProcedimientoVacunacionRB51.pdf.
10. **División de Protección Pecuaria.** 2006. Erradicación de Brucelosis Bovina. Brucelosis bovina. [En línea] Febrero de 2006. [Citado el: 06 de Febrero de 2013.] http://www.sag.cl/sites/default/files/TRIPTICO_CUARENTENA_PREDIAL_BB.PDF.
11. **El Santafesino.** 2005. El Santafesino Brucelosis, síntomas y características. [En línea] 15 de Diciembre de 2005. [Citado el: 8 de Noviembre de 2012.] <http://www.elsantafesino.com/sociedad/2005/12/14/4133>. ISO-8859-1
12. **Espinoza Ortega Raquel.** Prevalencia de Brucelosis bovina en el Cantón Gualaquiza, provincia de Morona Santiago. [Tesis de grado].Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2010.
13. **Estein, Silvia Marcela.** Brucelosis: Inmunidad y vacunación. 2006. 05, Buenos Aires: s.n., Mayo de 2006, REDVET, Vol. VII. ISSN 1695-7504.



14. **Estein, Silvia Marcela.** Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Brucelosis Bovina. [En línea] [Citado el: 5 de Noviembre de 2012.] <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Documentos%20novedades/Senasa/Documentos/apunte%20curso1.pdf>.
15. **Euzéby , J. P.** 2008. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire . *Brucella microti*. [En línea] 30 de Enero de 2008. [Citado el: 3 de Febrero de 2013.] <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/microti.html>.
16. **Gasque Gómez, Ramón.** 2008. UNAM Enciclopedia Bovina. Primera. México D. F.: s.n., 2008. ISBN 978-970-32-4359-4.
17. **Godfroid, J y et.al.,** 2011 etBrucellosis at the animal/ecosystems/human interface at the beginning of the 21st century 1 de Noviembre de 2011, PREVET. 2954.
18. **Huguet T., Carmen, et.al..** 2005 *Cuantificación de Brucella sp. En bovinos en la provincia de Canta, Lima..* Lima : s.n., 2005, Inv Vet . 158-162.
19. **INIFAP.** 2011. Prevención de Brucelosis en Ruminates. Manual de Capacitación. [En línea] Mayo de 2011. [Citado el: 04 de Febrero de 04.] http://utep.inifap.gob.mx/pdf_s/MANUAL%20BRUCELOSIS.pdf. ISBN: 978-607-425-557-7.



20. **Koneman, Elmer y, et.al.** 2008. Diagnóstico Microbiológico. sexta. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2008. ISBN 9500608952, 9789500608954.
21. **Lazaro, César.** 2009. 13.Monografías. com. *Brucela melitensis*. [En línea] 28 de Octubre de 2009. [Citado el: 24 de septiembre de 2012.] http://www.monografias.com/usuario/perfiles/cesar_lazaro/monografias.
22. **Lucero, Nidia, et.al.** . 2008. Manual de Procedimientos. *Técnicas para el diagnóstico de Brucelosis humana*. [En línea] 2008. [Citado el: 1 de febrero de 2013.] <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=A5On5X9ltMw%3D&tabid=783&mid=1713&language=en-US>.
23. **Manrique S., J, Ramos, S y Guzmán, C. J.** 2010. Estudio epizootiológico de Brucelosis bovina en el departamento de Santa Cruz. [En línea] 5 de Noviembre de 2010. [Citado el: 4 de Febrero de 2013.] http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/JUAN%20JOSE%20MANRIQUE%20S-20101105-161902.pdf.
24. **Martínez, Doménech, Garrido, P. y Mora, M. T.** 2009. BRUCELOSIS A FINAL DEL SIGLO XX. [En línea] 2009. [Citado el: 19 de noviembre de 2012.] <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:sl7FQG>



1ounYJ:revistas.um.es/analesvet/article/download/100201/95661+subcomite+de+taxonomia+de+brucelosis&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEESgLfqTzG2efKFQJ_ZG_Y1I3KTAe0iRkuz4pOprs9MqwLYm8_FpkkCHf3s94LI2xg_OPHLHE35jJT.

25. **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).** 2009. Información Zoosanitaria. Mapas de distribución de las enfermedades: Brucelosis bovina. [En línea] World Animal Health Information System (WAHIS), 26 de Marzo de 2009. [Citado el: 3 de Noviembre de 2012.]
http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap.
26. **Organización Mundial de Sanidad (OIE)** 2008. Manual de la OIE sobre animales terrestres . *Brucelosis Bovina*. [En línea] 2008. [Citado el: 5 de Febrero de 2013.]
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.03.%20Brucelosis%20bovina.pdf.
27. **PANAFTOSA.** 2006. Bacteriosis. Brucelosis. [En línea] 2006. [Citado el: 04 de Febrero de 04.]
http://bvs1.panaftosa.org.br/local/file/textoc/Acha_v1_brucelosis.pdf.
28. **Perea Remujo, Anselmo y Arenas Casas, Antonio.** 2008. Enfermedades infecciosa . [En línea] Septiembre de 2008. [Citado el: 3 de Febrero de



2013.] <http://www.uco.es/dptos/sanidad-animal/img/infecciosas/Brucelosis.pdf>.

29. **Piñate, Pedro B.** 2008. Notas Agropecuarias Venezuela. Las vacunas contra la Brucelosis bovina. [En línea] 30 de Septiembre de 2008. [Citado el: 06 de Febrero de 2013.] <http://agronotas.wordpress.com/2008/09/30/brucelosis-bovina/>.
30. **Rivers, R.; Andrews, E.; Gonzales Smith, A.; Donoso, G.; Oñate, A.** *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos. 2006. 1, Valdivia: Redalyc, 2006, Vol. XXXVIII. ISSN 0301-732X.
31. **Rodríguez Valera, Y.; Ramírez Sánchez, W.; Antúnez Sánchez, G.; Pérez Benet, F.; Ramírez Pérez, Y.; Igarza Pulles, Adria.** Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. 2005. 9, España: REDVET, 2005, Vol. VI. ISSN 1695-7504.
32. **Román Cárdenas, Franklin y Luna Herrera, Juliana.** 2012. Slideshare. Brucelosis. [En línea] Junio de 2012. [Citado el: 15 de octubre de 2012.] <http://www.slideshare.net/pacofranklin/brucelosisexpjun2012>.
33. **Romero, Raúl.** 2007. Microbiología y Parasitología Humana, Bases etiológicas de las



enfermedades infecciosas y parasitarias. México D. F.: Médica Panamericana, 2007. ISBN 978-968-7988-48-1.

34. **RovidSpickler, Anna; Roth, James A.; Galyon, Jane; Lofstedt, Jeanne; Lenardón, Maria Victoria.**2010. Enfermedades Emergentes y Exóticas de los Animales. Primera. Iowa: CFSPH Iowa State University, 2010. ISBN 0984627006, 9780984627004.
35. **Sánchez, Alfredo y al., et.** 2009Monitoreo epidemiológico para brucella abortus en fincas doble propósito del municipio machiques de perijá, Venezuela: Prevalencia, riesgo y efecto de un programa de control. 4, Maracaibo : s.n., Agosto de 2009, Cient. (Maracaibo), Vol. 19. ISSN 0798-2259
36. **Saúde Publica Veterinaria.** 2006. Bacteriosis . *Brucelosis*. [En línea] 15 de Mazo de 2006. [Citado el: 1 de Febrero de 20013.]
http://bvs1.panaftosa.org.br/local/file/textoc/Acha_v1_brucelosis.pdf.
37. **Sbriglio, Juan Lucas; Sbriglio, Humberto; Sainz, Sergio.** BRUCELOSIS: Una patología generalmente subdiagnosticada. 2007. 16, Buenos Aires: Revista sicoanálisis, 2007. ISSN 1669-8703.
38. **SENASA.** 2006. Enfermedades y Plagas . *Brucelosis*. [En línea] 21 de Septiembre de 2006. [Citado el: 5 de Febrero de 2013.]



<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=878&io=4543>.

39. **The Center for Food Security and Public Health.** . 2009. Brucelosis: Fiebre ondulante, Fiebre de Malta, Fiebre Mediterránea, Aborto enzoótico, Aborto epizoótico, Aborto contagioso, Enfermedad de Bang. [En línea] Julio de 2009. [Citado el: 12 de Noviembre de 2012.]
<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf>.
40. **Torres Hernán, Sandoval Patricio.** Dirección de Sanidad Animal Programas Específicos. 2009. Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina. [ed.]. Quito, Ecuador: s.n., Febrero de 2009.
41. **Trigo Tavara, Francisco J.** 2011. *Patología Sistemática Veterinaria*. México D. F. : Mc-Graw Hill, 2011. ISBN 978-607-15-0407-4.
42. **Universidad de Santiago de Compostela.** 2011. Contribución al estudio epidemiológico de la brucelosis bovina en la Comunidad Autónoma de Galicia. *investigación y aplicabilidad de la nuevas técnicas diagnósticas*. Lugo : s.n., 2011. ISBN 978-84-9887-615-4.
43. **Vega Medellín, Doris Maricela.** 2006. Pontificia Universidad Javeriana. *Brucella abortus*:



Antecedentes y avances en aspectos de patogénesis, diagnóstico y control. [En línea] 11 de Agosto de 2006. [Citado el: 12 de octubre de 2012.] <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis238.pdf>.

44. **Xavier, Mariana Noyma; Azevedo Costa, Érica; Alves Paixão, Tatiane; Lima Santos, Renato.** Thegenus Brucella and clinical manifestations of brucellosis. 2009. 7, Santa Maria: Ciência Rural, 2009, Vol. XXXIX. ISSN 0103-8478.



10. ANEXOS



Anexo1: Número de animales por parroquia y por edades

PARROQUIA	Terneros < 1 año	Terneras < 1 año	Vacas 1-2 Años	Toretes 1-2 años	Toros > 2 años	Hembras > 2 años	TOTAL
General Leónidas Plaza Gutiérrez	676	685	1279	890	877	2888	7295
Indanza	350	466	676	274	577	1519	3862
San Antonio	409	416	697	422	298	1364	3606
San Miguel de Conchay	542	539	751	576	530	1523	4461
Santa Susana de Chiviaza	426	462	849	636	445	1828	4646
Yunganza	187	179	439	323	260	971	2359
Total	2590	2747	4691	3121	2987	10093	26229

Fuente: Comisión Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa (CONEFA), Región 4 año 2011

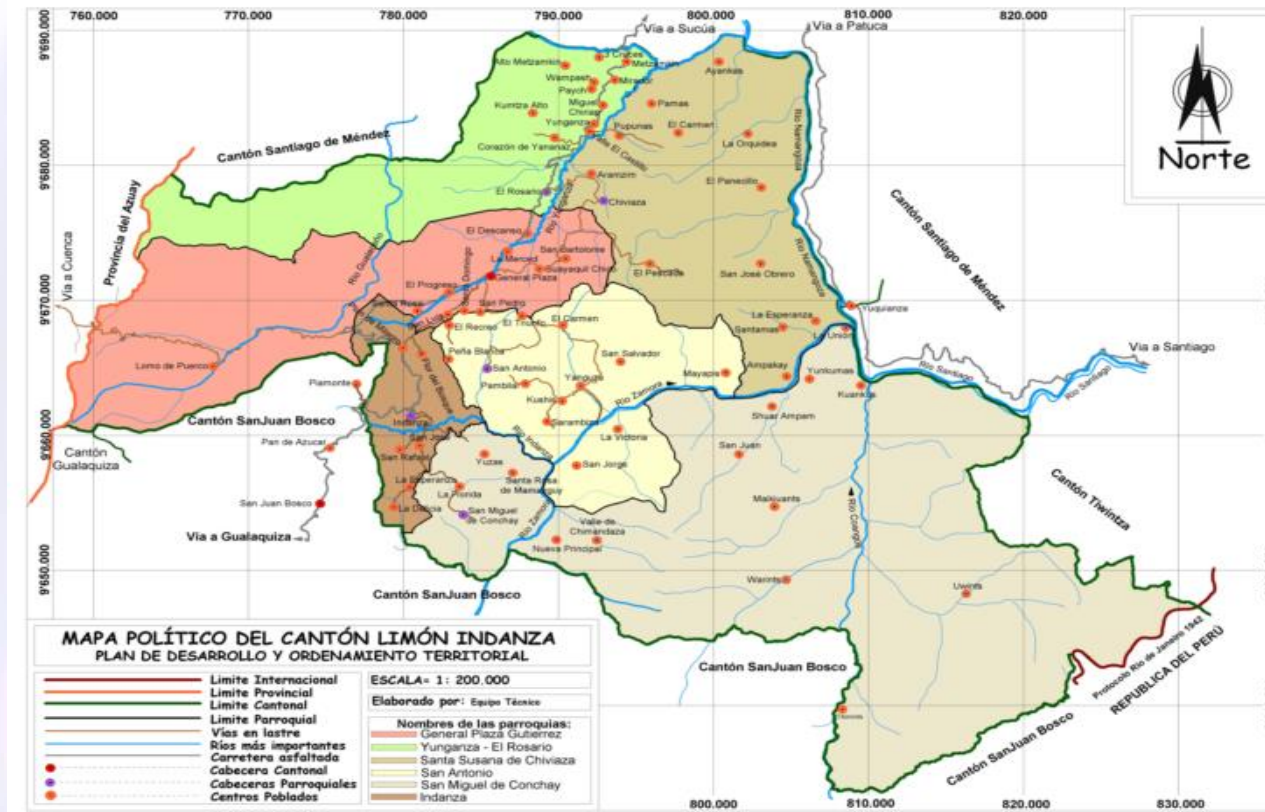


Anexo 2: Hoja de campo

UNIVERSIDAD DE CUENCA											
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS											
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA											
DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL CANTÓN LIMON INDANZA											
HOJA DE CAMPO											
PROPIETARIO:	No. DE ANIMALES:	FECHA:									
CODIGO:	PARROQUIA:										
	SECTOR:										
	PREDIO(FINCA):										
No. TUBO	IDENTIFICACION	RAZA	EDAD (MESES)	SEXO		SISTEMA DE REPRODUCCION			VACUNADO		EDAD VACUNACIÓN
				MACHO	HEMBRA	M.N.	I.A.	MIXTA	SI	NO	
OBSERVACIONES:						FIRMA:					

Fuente: Autores.

Anexo 3: Mapa político del cantón Limón Indanza



Fuente: Municipio de Limón Indanza

Anexo 4: Fotografías

Fotos de Trabajo de campo.

Sujeción del ganado para toma de muestras.



Fuente: Autores.

Toma de Muestras Sanguíneas.



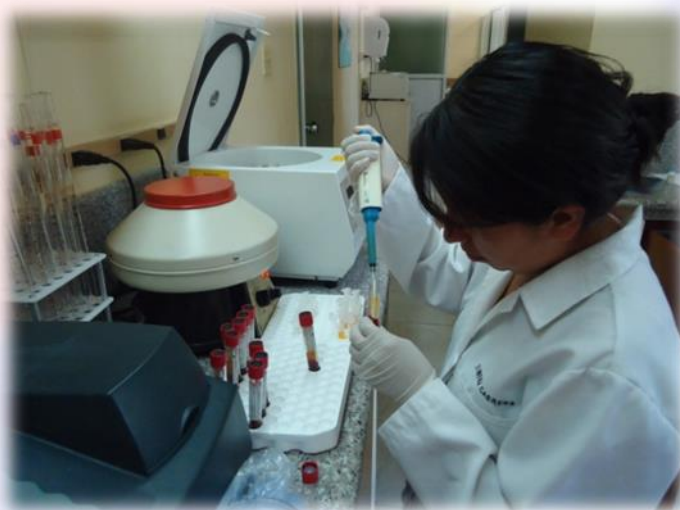
Fuente: Autores

Toma de datos en la Hoja de Campo



Fuente: Autores.

Centrifugación y obtención del suero sanguíneo



Fuente: Autores.

Fotos en los laboratorios ejecutando Rosa de Bengala

Reactivo Rosa de Bengala



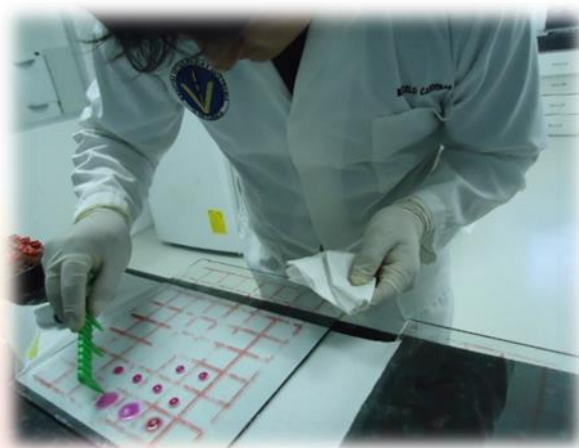
Fuente: Autores.

Agregando el Reactivo Rosa de Bengala y el suero sanguineo.



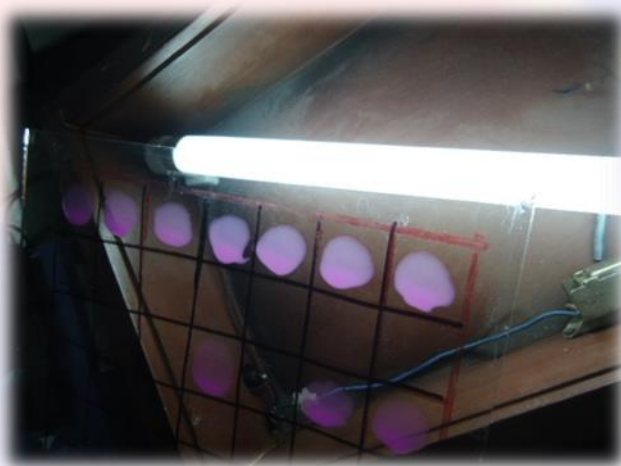
Fuente: Autores.

Homogenización de la reacción “Rosa de Bengala” y del suero sanguíneo con la ayuda de una peineta



Fuente: Autores.

Lectura de la reacción a Rosa de Bengala



Fuente: Autores

Fotos en los laboratorios ejecutando ELISA de competencia

Kit para ejecutar ELISA de competición



Fuente: Autores.

Mezcla de los reactivos que comprenden ELISA de competencia con el suero sanguíneo



Fuente: Autores
Lector de ELISA multicanal ejecutandose



Fuente: Autores.

Fotos de entrega de resultados del analisis a los ganaderos



Fuente: Autores

Anexo 5: Fincas que Integraron la Muestra

CODIGO	PRINCIPAL/ SUPLENTE	PARROQUIA	SITIO	PROPIETARIO
A-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Numbaime	Espinoza López Celio Serafín
B-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Yavintza	Molina Tapia Ángel Aurelio
J-GEN	S	Gral. Leonidas Plaza	San Bartolo	Marca María Delfilia
C-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Flor del Bosque	Angamarca Peñaranda Marco
D-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Numbaime	Tigre Corte Víctor Manuel
E-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Santa Clara	Rodríguez Deifilio
F-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	San Jacinto	Bonilla Manuel
G-GEN	S	Gral. Leonidas Plaza	Yavintza	Marín Reinoso Luis Patricio
H-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	Chiviaza	Centeno Segundo Placido
I-GEN	P	Gral. Leonidas Plaza	La Florida	Panjón Rosa

K-GEN	S	Plaza Gral. Leonidas	Plan de Milagro	Lucero Fajardo José Manuel
A-CH	P	Plaza Chiviaza	Cerro Negro	Guaraca Reinoso Miguel Olegario
E-CH	P	Chiviaza	El Achotal	Calle Borja Carlos Gonzalo
B-CH	P	Chiviaza	Chiviaza	Rojas Garnica Edita Lucia
G-CH	P	Chiviaza	Ayankas	Marca Víctor
H-CH	P	Chiviaza	El Carmen	Torres Geovanny
D-CH	S	Chiviaza	Chiviaza	Ahoña Esther
C-CH	S	Chiviaza	Chiviaza	Fernández José
F-CH	S	Chiviaza	La Orquidia	Orellana Patricio
C-MI	S	San Miguel	San Miguel	Quito Quichimbo Rosa Elvia
E-MI	P	San Miguel	nueva Principal	Zhicay Julio
B-MI	P	San Miguel	San Miguel	Guncay Celia María
F-MI	P	San Miguel	Florida	Peláez Maita Miguel Antonio
D-MI	P	San Miguel	San Miguel	Zhunio Luis Alejandro
A-MI	S	San Miguel	Florida	Graciela Muy
C-IN	P	Indanza	La Esperanza	Lojano Espinoza Rene Heriberto
D-IN	P	Indanza	La Esperanza	Maita Julio Gonzalo
A-IN	P			Nivelo Guncay María
B-IN	P	Indanza	San José	Victoria
		Indanza	San José	Sumba Quiroga José Clemente
F-IN	P	Indanza	Feria	Peñaranda Brito Julio



E-IN	S	Indanza	La Esperanza	Norberto Lojano Guzmán Luis Rolando
B-AN	P	San Antonio	Sarambiza	Bonilla Lucero Manuel Cruz
A-AN	P	San Antonio	Sarambiza	Chacón Cornelio
D-AN	P	San Antonio	San Jorge	SánchezMaría
C-AN	S	San Antonio	Cerro Negro	Lucero Fajardo María Zoila
E-AN	S	San Antonio	San Jorge	Castro Luz
A-YU	P	Yunganza	Metzankim	ArévaloChacón Carlos Joab
B-YU	S	Yunganza	Corazón de Yananas	Reinoso Ángel
C-YU	S	Yunganza	San Jacinto de Yananas	Samaniego Moisés



Anexo 6: Informe de los análisis de laboratorio a “Rosa de Bengala” y “c-ELISA”



 Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca	LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS	 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO
	INFORME DE ANÁLISIS (Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef. 02-2372-845 Ext. 222)	

Informe N° B1208-039

Fecha del Informe : 13-08-2012
No. de Factura: 00000

Persona o Empresa Solicitante: DR.

Dirección:

Dirección/Provincia: AZUAY

Cantón: CUENCA

Teléfono: ----

Parroquia: VARIAS

Descripción: Se entregó al Laboratorio de Sanidad Animal, 245 muestras de sueros sanguíneos de bovinos recibidas en buen estado, para el diagnóstico de Brucelosis.

Conservación: Refrigeración.

DATOS DE LA MUESTRA:

Propietario: TESIS CUENCA

Dirección/Provincia: AZUAY

Teléfono: ----

No. de muestras: 245

Fecha de toma de la muestra: ----

Fecha inicio análisis: 25/07/2012

Predio: ---

Cantón: CUENCA

Parroquia:

Tipo de muestras: SUEROS

Fecha de ingreso de las muestras: 01/08/2012

Fecha finalización análisis: 25/07/2012

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

MÉTODO ANALÍTICO: AGLUTINACIÓN y ELISA

N°	Código de Muestra	N° Tubo	Nombre del Propietario	Edad	Tipo de Vacuna	Rosa de Bengala	c-ELISA (% de Inh)	Observaciones
1	A-GEN	1	Espinoza Celio	48	--	NEGATIVO	--	--
2	A-GEN	2	Espinoza Celio	36	--	NEGATIVO	--	--
3	A-GEN	3	Espinoza Celio	48	--	NEGATIVO	--	--
4	A-GEN	4	Espinoza Celio	48	--	NEGATIVO	--	--
5	A-GEN	5	Espinoza Celio	18	--	NEGATIVO	--	--
6	A-GEN	6	Espinoza Celio	28	--	NEGATIVO	--	--
7	A-GEN	7	Espinoza Celio	96	--	NEGATIVO	--	--
8	B-GEN	1	Ángel Molina	84	--	NEGATIVO	--	--
9	B-GEN	2	Ángel Molina	48	--	NEGATIVO	--	--
10	B-GEN	3	Ángel Molina	24	--	NEGATIVO	--	--
11	B-GEN	4	Ángel Molina	60	--	NEGATIVO	--	--
12	B-GEN	5	Ángel Molina	72	--	NEGATIVO	--	--
13	B-GEN	6	Ángel Molina	42	--	NEGATIVO	--	--
14	J-GEN	7	Marca María Deifilia	24	--	NEGATIVO	--	--
15	C-GEN	1	Marco Angamarca	29	--	NEGATIVO	--	--
16	C-GEN	2	Marco Angamarca	48	--	NEGATIVO	--	--
17	C-GEN	3	Marco Angamarca	48	--	NEGATIVO	--	--
18	C-GEN	4	Marco Angamarca	42	--	NEGATIVO	--	--





 Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca	LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS		 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO
	INFORME DE ANÁLISIS (Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef: 02-2372-845 Ext. 222)		

N°	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	ELISA (% de Inh)	Observaciones
19	C-GEN	5	Marco Angamarca	36	--	NEGATIVO	--	--
20	C-GEN	6	Marco Angamarca	14	--	POSITIVO	22.4	NEGATIVO
21	C-GEN	7	Marco Angamarca	36	--	NEGATIVO	--	--
22	D-GEN	1	Tigre Víctor	36	--	NEGATIVO	--	--
23	D-GEN	2	Tigre Víctor	30	--	NEGATIVO	--	--
24	D-GEN	3	Tigre Víctor	18	--	NEGATIVO	--	--
25	D-GEN	4	Tigre Víctor	24	--	NEGATIVO	--	--
26	D-GEN	5	Tigre Víctor	48	--	NEGATIVO	--	--
27	D-GEN	6	Tigre Víctor	60	--	NEGATIVO	--	--
28	D-GEN	7	Tigre Víctor	24	--	NEGATIVO	--	--
29	E-GEN	1	Rodríguez Deifilio	24	--	SOSPECHOSO	25.06	NEGATIVO
30	E-GEN	2	Rodríguez Deifilio	144	--	NEGATIVO	--	--
31	E-GEN	3	Rodríguez Deifilio	144	--	NEGATIVO	--	--
32	E-GEN	4	Rodríguez Deifilio	20	--	NEGATIVO	--	--
33	E-GEN	5	Rodríguez Deifilio	72	--	SOSPECHOSO	24.66	NEGATIVO
34	E-GEN	6	Rodríguez Deifilio	60	--	NEGATIVO	--	--
35	E-GEN	7	Rodríguez Deifilio	120	--	NEGATIVO	--	--
36	F-GEN	1	Bonilla Manuel	60	--	NEGATIVO	--	--
37	F-GEN	2	Bonilla Manuel	36	--	NEGATIVO	--	--
38	F-GEN	3	Bonilla Manuel	24	--	NEGATIVO	--	--
39	F-GEN	4	Bonilla Manuel	120	--	NEGATIVO	--	--
40	F-GEN	5	Bonilla Manuel	72	--	SOSPECHOSO	27.22	NEGATIVO
41	F-GEN	6	Bonilla Manuel	90	--	NEGATIVO	--	--
42	F-GEN	7	Bonilla Manuel	14	--	NEGATIVO	--	--
43	G-GEN	1	Marín Luis	24	--	NEGATIVO	--	--
44	G-GEN	2	Marín Luis	36	--	NEGATIVO	--	--
45	G-GEN	3	Marín Luis	48	--	NEGATIVO	--	--
46	G-GEN	4	Marín Luis	96	--	NEGATIVO	--	--
47	G-GEN	5	Marín Luis	84	--	SOSPECHOSO	14.71	NEGATIVO
48	G-GEN	6	Marín Luis	18	--	NEGATIVO	--	--
49	G-GEN	7	Marín Luis	14	--	NEGATIVO	--	--
50	H-GEN	1	Segundo Centeno	60	--	NEGATIVO	--	--
51	H-GEN	2	Segundo Centeno	60	--	NEGATIVO	--	--
52	H-GEN	3	Segundo Centeno	20	--	NEGATIVO	--	--
53	H-GEN	4	Segundo Centeno	24	--	NEGATIVO	--	--
54	H-GEN	5	Segundo Centeno	36	--	NEGATIVO	--	--
55	H-GEN	6	Segundo Centeno	36	--	NEGATIVO	--	--
56	H-GEN	7	Segundo Centeno	24	--	NEGATIVO	--	--
57	I-GEN	1	Panjon Rosa	60	--	NEGATIVO	--	--
58	I-GEN	2	Panjon Rosa	18	--	NEGATIVO	--	--
59	I-GEN	3	Panjon Rosa	15	--	NEGATIVO	--	--





 <p>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca</p>	LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS	 <p>AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</p>
	<p>INFORME DE ANÁLISIS</p> <p>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef. 02-2372-845 Ext. 222)</p>	

Nº	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	e-ELISA (% de Inh)	Observaciones
60	I-GEN	4	Panjon Rosa	20	--	NEGATIVO	--	--
61	I-GEN	5	Panjon Rosa	18	--	NEGATIVO	--	--
62	I-GEN	6	Panjon Rosa	18	--	NEGATIVO	--	--
63	I-GEN	7	Panjon Rosa	19	--	NEGATIVO	--	--
64	K-GEN	1	Lucero José	60	--	NEGATIVO	--	--
65	K-GEN	2	Lucero José	72	--	NEGATIVO	--	--
66	K-GEN	3	Lucero José	108	--	NEGATIVO	--	--
67	K-GEN	4	Lucero José	96	--	NEGATIVO	--	--
68	K-GEN	5	Lucero José	24	--	NEGATIVO	--	--
69	K-GEN	6	Lucero José	30	--	NEGATIVO	--	--
70	K-GEN	7	Lucero José	84	--	POSITIVO	26.11	NEGATIVO
71	A-CH	1	Guaraca Miguel	18	--	NEGATIVO	--	--
72	A-CH	2	Guaraca Miguel	24	--	NEGATIVO	--	--
73	A-CH	3	Guaraca Miguel	60	--	NEGATIVO	--	--
74	A-CH	4	Guaraca Miguel	36	--	NEGATIVO	--	--
75	A-CH	5	Guaraca Miguel	36	--	NEGATIVO	--	--
76	A-CH	6	Guaraca Miguel	204	--	NEGATIVO	--	--
77	A-CH	7	Guaraca Miguel	84	--	NEGATIVO	--	--
78	B-CH	1	Rojas Edita Lucia	48	--	NEGATIVO	--	--
79	B-CH	2	Rojas Edita Lucia	48	--	NEGATIVO	--	--
80	B-CH	3	Rojas Edita Lucia	12	--	NEGATIVO	--	--
81	C-CH	4	José Fernández	48	--	NEGATIVO	--	--
82	C-CH	5	José Fernández	60	--	NEGATIVO	--	--
83	C-CH	6	José Fernández	20	--	NEGATIVO	--	--
84	C-CH	7	José Fernández	15	--	NEGATIVO	--	--
85	E-CH	1	Calle Carlos	96	--	NEGATIVO	--	--
86	E-CH	2	Calle Carlos	84	--	NEGATIVO	--	--
87	E-CH	3	Calle Carlos	60	--	NEGATIVO	--	--
88	E-CH	4	Calle Carlos	60	--	NEGATIVO	--	--
89	E-CH	5	Calle Carlos	60	--	NEGATIVO	--	--
90	E-CH	6	Calle Carlos	24	--	NEGATIVO	--	--
91	E-CH	7	Calle Carlos	18	--	NEGATIVO	--	--
92	D-CH	1	Aoña Esther	60	--	NEGATIVO	--	--
93	D-CH	2	Aoña Esther	48	--	NEGATIVO	--	--
94	D-CH	3	Aoña Esther	72	--	NEGATIVO	--	--
95	D-CH	4	Aoña Esther	156	--	NEGATIVO	--	--
96	D-CH	5	Aoña Esther	30	--	NEGATIVO	--	--
97	D-CH	6	Aoña Esther	72	--	NEGATIVO	--	--
98	D-CH	7	Aoña Esther	30	--	NEGATIVO	--	--
99	G-CH	1	Marca Víctor	36	--	NEGATIVO	--	--
100	G-CH	2	Marca Víctor	48	--	NEGATIVO	--	--





 <p>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca</p>	<p>LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS</p>	 <p>AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</p>
	<p>INFORME DE ANÁLISIS</p> <p>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef. 02-2372-845 Ext. 222)</p>	

N°	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	e-ELISA (% de Inh)	Observaciones
101	G-CH	3	Marca Víctor	36	--	NEGATIVO	--	--
102	G-CH	4	Marca Víctor	132	--	NEGATIVO	--	--
103	G-CH	5	Marca Víctor	24	--	NEGATIVO	--	--
104	G-CH	6	Marca Víctor	96	--	NEGATIVO	--	--
105	G-CH	7	Marca Víctor	24	--	NEGATIVO	--	--
106	H-CH	1	Torres Geovani	18	--	NEGATIVO	--	--
107	H-CH	2	Torres Geovani	18	--	NEGATIVO	--	--
108	H-CH	3	Torres Geovani	24	--	NEGATIVO	--	--
109	H-CH	4	Torres Geovani	24	--	NEGATIVO	--	--
110	H-CH	5	Torres Geovani	60	--	NEGATIVO	--	--
111	H-CH	6	Torres Geovani	24	--	NEGATIVO	--	--
112	H-CH	7	Torres Geovani	24	--	NEGATIVO	--	--
113	F-CH	1	Orellana Patricio	60	--	POSITIVO	20.44	NEGATIVO
114	F-CH	2	Orellana Patricio	60	--	NEGATIVO	--	--
115	F-CH	3	Orellana Patricio	15	--	NEGATIVO	--	--
116	F-CH	4	Orellana Patricio	36	--	NEGATIVO	--	--
117	F-CH	5	Orellana Patricio	18	--	NEGATIVO	--	--
118	F-CH	6	Orellana Patricio	48	--	SOSPECHOSO	20.14	NEGATIVO
119	F-CH	7	Orellana Patricio	48	--	NEGATIVO	--	--
120	A-MI	1	Graciela Muy	54	--	NEGATIVO	--	--
121	A-MI	2	Graciela Muy	72	--	NEGATIVO	--	--
122	A-MI	3	Graciela Muy	96	--	NEGATIVO	--	--
123	A-MI	4	Graciela Muy	18	--	NEGATIVO	--	--
124	A-MI	5	Graciela Muy	84	--	NEGATIVO	--	--
125	A-MI	6	Graciela Muy	20	--	NEGATIVO	--	--
126	A-MI	7	Graciela Muy	21	--	NEGATIVO	--	--
127	B-MI	1	Celia Guncay	48	--	NEGATIVO	--	--
128	B-MI	2	Celia Guncay	15	--	NEGATIVO	--	--
129	B-MI	3	Celia Guncay	48	--	NEGATIVO	--	--
130	B-MI	4	Celia Guncay	36	--	NEGATIVO	--	--
131	B-MI	5	Celia Guncay	24	--	NEGATIVO	--	--
132	B-MI	6	Celia Guncay	60	--	NEGATIVO	--	--
133	B-MI	7	Celia Guncay	84	--	NEGATIVO	--	--
134	C-MI	1	Quito Rosa	27	--	NEGATIVO	--	--
135	C-MI	2	Quito Rosa	84	--	NEGATIVO	--	--
136	C-MI	3	Quito Rosa	18	--	NEGATIVO	--	--
137	C-MI	4	Quito Rosa	36	--	NEGATIVO	--	--
138	C-MI	5	Quito Rosa	36	--	NEGATIVO	--	--
139	C-MI	6	Quito Rosa	24	--	NEGATIVO	--	--
140	C-MI	7	Quito Rosa	36	--	NEGATIVO	--	--
141	D-MI	1	Luis Zhunio	16	--	NEGATIVO	--	--





 <p>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca</p>	<p>LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS</p>	 <p>AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</p>
	<p>INFORME DE ANÁLISIS</p> <p>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef. 02-2372-845 Ext. 222)</p>	

Nº	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	c-ELISA (% de Inh)	Observaciones
142	D-MI	2	Luis Zhunio	18	--	NEGATIVO	--	--
143	D-MI	3	Luis Zhunio	48	--	NEGATIVO	--	--
144	D-MI	4	Luis Zhunio	36	--	NEGATIVO	--	--
145	D-MI	5	Luis Zhunio	30	--	NEGATIVO	--	--
146	D-MI	6	Luis Zhunio	20	--	NEGATIVO	--	--
147	D-MI	7	Luis Zhunio	21	--	NEGATIVO	--	--
148	E-MI	1	Julio Zhicay	48	--	NEGATIVO	--	--
149	E-MI	2	Julio Zhicay	60	--	NEGATIVO	--	--
150	E-MI	3	Julio Zhicay	72	--	NEGATIVO	--	--
151	E-MI	4	Julio Zhicay	60	--	NEGATIVO	--	--
152	E-MI	5	Julio Zhicay	36	--	NEGATIVO	--	--
153	E-MI	6	Julio Zhicay	28	--	NEGATIVO	--	--
154	E-MI	7	Julio Zhicay	18	--	NEGATIVO	--	--
155	F-MI	1	Miguel Peláez	48	--	NEGATIVO	--	--
156	F-MI	2	Miguel Peláez	16	--	NEGATIVO	--	--
157	F-MI	3	Miguel Peláez	20	--	NEGATIVO	--	--
158	F-MI	4	Miguel Peláez	18	--	NEGATIVO	--	--
159	F-MI	5	Miguel Peláez	20	--	NEGATIVO	--	--
160	F-MI	6	Miguel Peláez	48	--	NEGATIVO	--	--
161	F-MI	7	Miguel Peláez	48	--	SOSPECHOSO	19.73	NEGATIVO
162	A-IN	1	Nivelo María Victoria	72	--	NEGATIVO	--	--
163	A-IN	2	Nivelo María Victoria	24	--	NEGATIVO	--	--
164	A-IN	3	Nivelo María Victoria	48	--	NEGATIVO	--	--
165	A-IN	4	Nivelo María Victoria	96	--	NEGATIVO	--	--
166	A-IN	5	Nivelo María Victoria	48	--	NEGATIVO	--	--
167	A-IN	6	Nivelo María Victoria	120	--	NEGATIVO	--	--
168	A-IN	7	Nivelo María Victoria	24	--	NEGATIVO	--	--
169	B-IN	1	Sumba José	24	--	POSITIVO	24.3	NEGATIVO
170	B-IN	2	Sumba José	60	--	NEGATIVO	--	--
171	B-IN	3	Sumba José	24	--	NEGATIVO	--	--
172	B-IN	4	Sumba José	60	--	NEGATIVO	--	--
173	B-IN	5	Sumba José	84	--	NEGATIVO	--	--
174	B-IN	6	Sumba José	120	--	NEGATIVO	--	--
175	B-IN	7	Sumba José	36	--	NEGATIVO	--	--
176	C-IN	1	Lojano Rene	48	--	NEGATIVO	--	--
177	C-IN	2	Lojano Rene	36	--	NEGATIVO	--	--
178	C-IN	3	Lojano Rene	42	--	NEGATIVO	--	--
179	C-IN	4	Lojano Rene	36	--	NEGATIVO	--	--
180	C-IN	5	Lojano Rene	48	--	NEGATIVO	--	--
181	C-IN	6	Lojano Rene	36	--	NEGATIVO	--	--
182	C-IN	7	Lojano Rene	16	--	NEGATIVO	--	--





 <p>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca</p>	<p>LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS</p>	 <p>AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</p>
	<p>INFORME DE ANÁLISIS</p> <p>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef: 02-2372-845 Ext: 222)</p>	

Nº	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	e-ELISA (% de Inh)	Observaciones
183	D-IN	1	Maita Julio Gonzalo	42	--	NEGATIVO	--	--
184	D-IN	2	Maita Julio Gonzalo	36	--	NEGATIVO	--	--
185	E-IN	3	Lojano Luis	18	--	NEGATIVO	--	--
186	E-IN	4	Lojano Luis	36	--	NEGATIVO	--	--
187	E-IN	5	Lojano Luis	48	--	NEGATIVO	--	--
188	E-IN	6	Lojano Luis	62	--	NEGATIVO	--	--
189	E-IN	7	Lojano Luis	15	--	NEGATIVO	--	--
190	F-IN	1	Peñaranda Julio	16	--	NEGATIVO	--	--
191	F-IN	2	Peñaranda Julio	24	--	NEGATIVO	--	--
192	F-IN	3	Peñaranda Julio	48	--	NEGATIVO	--	--
193	F-IN	4	Peñaranda Julio	20	--	SOSPECHOSO	19.73	NEGATIVO
194	F-IN	5	Peñaranda Julio	60	--	NEGATIVO	--	--
195	F-IN	6	Peñaranda Julio	48	--	NEGATIVO	--	--
196	F-IN	7	Peñaranda Julio	60	--	NEGATIVO	--	--
197	A-AN	1	Chacón Cornelio	60	--	NEGATIVO	--	--
198	A-AN	2	Chacón Cornelio	48	--	NEGATIVO	--	--
199	A-AN	3	Chacón Cornelio	30	--	NEGATIVO	--	--
200	A-AN	4	Chacón Cornelio	48	--	NEGATIVO	--	--
201	A-AN	5	Chacón Cornelio	18	--	NEGATIVO	--	--
202	A-AN	6	Chacón Cornelio	48	--	NEGATIVO	--	--
203	A-AN	7	Chacón Cornelio	36	--	NEGATIVO	--	--
204	B-AN	1	Bonilla Manuel	96	--	NEGATIVO	--	--
205	B-AN	2	Bonilla Manuel	36	--	NEGATIVO	--	--
206	B-AN	3	Bonilla Manuel	120	--	NEGATIVO	--	--
207	B-AN	4	Bonilla Manuel	24	--	NEGATIVO	--	--
208	B-AN	5	Bonilla Manuel	18	--	NEGATIVO	--	--
209	B-AN	6	Bonilla Manuel	36	--	NEGATIVO	--	--
210	E-AN	7	Castro Luz	48	--	NEGATIVO	--	--
211	C-AN	1	Lucero María	24	--	NEGATIVO	--	--
212	C-AN	2	Lucero María	48	--	NEGATIVO	--	--
213	C-AN	3	Lucero María	36	--	NEGATIVO	--	--
214	C-AN	4	Lucero María	36	--	NEGATIVO	--	--
215	C-AN	5	Lucero María	36	--	NEGATIVO	--	--
216	C-AN	6	Lucero María	36	--	NEGATIVO	--	--
217	C-AN	7	Lucero María	20	--	NEGATIVO	--	--
218	D-AN	1	Sánchez María	36	--	NEGATIVO	--	--
219	D-AN	2	Sánchez María	36	--	NEGATIVO	--	--
220	D-AN	3	Sánchez María	18	--	NEGATIVO	--	--

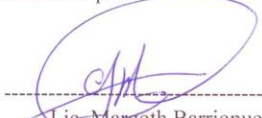



 <p>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca</p>	<p>LABORATORIO DE ENFERMEDADES BOVINAS</p>	 <p>AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</p>
	<p>INFORME DE ANÁLISIS</p> <p>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAG, Tumbaco – Quito Telef: 02-2372-845 Ext: 222)</p>	

N°	Código de Muestra	Nombre	Edad	Tipo vacuna	CATEGORÍA	Rosa de Bengala	C-ELISA (% de Inh)	Observaciones
221	D-AN	4	Sánchez María	36	--	NEGATIVO	--	--
222	D-AN	5	Sánchez María	96	--	NEGATIVO	--	--
223	D-AN	6	Sánchez María	108	--	NEGATIVO	--	--
224	D-AN	7	Sánchez María	36	--	SOSPECHOSO	24.46	NEGATIVO
225	A-YU	1	Arevalo Carlos	24	--	NEGATIVO	--	--
226	A-YU	2	Arevalo Carlos	24	--	NEGATIVO	--	--
227	A-YU	3	Arevalo Carlos	30	--	NEGATIVO	--	--
228	A-YU	4	Arevalo Carlos	36	--	NEGATIVO	--	--
229	A-YU	5	Arevalo Carlos	36	--	NEGATIVO	--	--
230	A-YU	6	Arevalo Carlos	48	--	NEGATIVO	--	--
231	A-YU	7	Arevalo Carlos	42	--	NEGATIVO	--	--
232	B-YU	1	Ángel Reinoso	36	--	NEGATIVO	--	--
233	B-YU	2	Ángel Reinoso	24	--	NEGATIVO	--	--
234	B-YU	3	Ángel Reinoso	36	--	NEGATIVO	--	--
235	B-YU	4	Ángel Reinoso	24	--	NEGATIVO	--	--
236	B-YU	5	Ángel Reinoso	28	--	NEGATIVO	--	--
237	B-YU	6	Ángel Reinoso	26	--	NEGATIVO	--	--
238	B-YU	7	Ángel Reinoso	26	--	POSITIVO	27.07	NEGATIVO
239	C-YU	1	Samaniego Moisés	48	--	NEGATIVO	--	--
240	C-YU	2	Samaniego Moisés	24	--	NEGATIVO	--	--
241	C-YU	3	Samaniego Moisés	60	--	NEGATIVO	--	--
242	C-YU	4	Samaniego Moisés	48	--	NEGATIVO	--	--
243	C-YU	5	Samaniego Moisés	48	--	NEGATIVO	--	--
244	C-YU	6	Samaniego Moisés	42	--	NEGATIVO	--	--
245	C-YU	7	Samaniego Moisés	36	--	NEGATIVO	--	--

OBSERVACIONES: Nota: El Porcentaje de Inhibición, superior o igual a 30% es considerado como positivo.

Analizado por:


Lic. Margoth Barrionuevo S.
Responsable Serología


Dr. Patricio Sandoval V.
Responsable Laboratorio Sanidad Animal



