



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Portada

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Determinación de la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados en el cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

AUTOR:

José Manuel Cruz Castillo

DIRECTORA:

MVZ. Jhuliana Luna Herrera, Mg. Sc.

Loja –Ecuador

2022

Certificación del trabajo de titulación

Loja, 17 de mayo de 2022

Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Certifico:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del trabajo de titulación: “**Determinación de la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados en el cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe**”, de autoría del estudiante **Cruz Castillo José Manuel**, previa a la obtención del título de **Médico Veterinario Zootecnista**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja para el efecto, autorizo la presentación para la respectiva sustentación y defensa.

Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg.Sc.
DIRECTOR/ADEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **José Manuel Cruz Castillo**, declaro ser autor del presente trabajo de titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la **Universidad Nacional de Loja**, la publicación de mi trabajo de titulación en el Repositorio Digital Institucional-Biblioteca Virtual.

Cédula de identidad: 1718591553

Fecha: 17 de mayo de 2022

Correo electrónico: jose.cruz@unl.edu.ec

Celular: 0939014019

Carta de autorización del trabajo de titulación por parte del autor para la consulta de producción parcial o total, y publicación electrónica de texto completo.

Yo **José Manuel Cruz Castillo**, declaro ser el autor del trabajo de titulación: **Determinación de la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados en el cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe** como requisito para optar al grado de **Médico Veterinario Zootecnista**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Institucional:

Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, firmo en la ciudad de Loja, a los 13 del mes de mayo del año 2022

Firma::

Autor: José Manuel Cruz Castillo

Cédula de identidad: 1718591553

Dirección: Loja, Francisco de Miranda y José de Artigas, Daniel Álvarez

Correo electrónico: jose.cruz@unl.edu.ec

Teléfono celular: 0939014019

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de titulación: Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

Tribunal de Grado:

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez, Mg. Sc. (presidente) Mvz.

Roberto Claudio Bustillos Huilca, Mg. Sc. (Vocal)Mvz.

Jenny Soraya Carrillo Toro, Mg. Sc. (Vocal)

Dedicatoria

A Gregorio y Alexandra, David, Paula y Julián

A Carolina, Santiago y Lía

Mi esencia.

José Manuel Cruz Castillo

Agradecimientos

Agradezco a Dios por brindarme la capacidad de comprensión del conocimiento, de las ciencias y la intelectualidad permitiéndome desarrollar mi carrera estudiantil y futura carrera profesional en ascuas del descubrimiento de mi motivo y el apoyo al avance de la humanidad.

A mis docentes y colegas cuya paciencia y saber durante el transcurso de la carrera, apoyaron mi camino y sembraron en mi la semilla del interés por las ciencias veterinarias y zootecnistas, hacienda de esta rama científica mi filosofía y forma de vivir.

Agradezco a la institución AGROCALIDAD en persona del Mvz. Lenin Castillo Mg.Sc. por su apoyo y paciencia en el transcurso práctico de esta investigación, a la Mvz. Jhuliana Katherine Luna Mg.Sc. Por su especial interés en el desarrollo de este tema y a todos los profesionales que apoyaron el desarrollo de esta investigación.

A aquellos profesionales que con sus aportes científicos previos aportaron en mi crecimiento llenando de información este trabajo y mi vida personal. A la Universidad Nacional de Loja, hogar de cultivo de las mentes y generador de hombres y mujeres de ciencia, ética y moral

José Manuel Cruz Castillo

Índice de contenidos

Tabla de contenido

Portada	i
Certificación del trabajo de titulación.....	ii
Autoría.....	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1. Abstract	3
3. Introducción.....	4
4. Marco Teórico.....	5
6. Resultados.....	25
7. Discusión	26
8. Conclusiones	29
9. Recomendaciones.....	30
10. Bibliografía	31
11. Anexos	35

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados Rosa de Bengala.....	35
---	----

Índice de figuras

Figura 1. Mapa del cantón el Pangui y su división parroquial.....	15
Figura 2. Procesamiento de muestras	36
Figura 3. Reactivo Rosa de Bengala	36
Figura 4. Espacio de trabajo	37
Figura 5. Muestras sometidas a fondo oscuro	37
Figura 6. Muestras en Placa con aumento de lupa.....	37
Figura 7. Certificado de traducción.....	38

1. Título

“Determinación de la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados en el cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe”.

2. Resumen

La brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa causada por *Brucella abortus*, cocoide Gram negativo que afecta principalmente a los bovinos y secundariamente a otras especies animales (en orden decreciente de susceptibilidad puede extenderse a: ovinos, caprinos, equinos, y caninos) y a los humanos. La presente investigación tuvo como fin determinar la seroprevalencia y los factores asociados de brucelosis bovina en el cantón el Pangui provincia de Zamora Chinchipe; se procesaron 166 muestras sanguíneas según los protocolos de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoo- sanitario (AGROCALIDAD), por lo que se aplicaron las técnicas serológicas Rosa de Bengala y ELISA de competición. Por otra parte, durante el muestreo se obtuvo información respecto a las siguientes variables: raza, procedencia, tamaño de predio, tipo de explotación, número de partos, tipo de reproducción, presencia de abortos en el último año, infertilidad y partos prematuro. El 5,42 % de animales resultaron positivos en la prueba rosa de bengala, sin embargo, ninguna muestra fue confirmada mediante ELISA, por lo que no se pudo ejecutar el análisis para establecer factores asociados

Palabras clave: brucelosis bovina, aborto, zoonosis, inmunodiagnóstico.

2.1. Abstract

Bovine brucellosis is an infectious disease caused by *Brucella abortus*, Gram negative coccoid that mainly affects cattle and secondarily other animal species (in decreasing order of susceptibility can be extended to: sheep, goats, horses, and canines) and humans. The present investigation had in order to determine the seroprevalence and associated factors of bovine brucellosis in the canton of Pangui province of Zamora Chinchipe; 166 samples were processed according to the protocols of the Agency for the Regulation and Control of Fito and Zoosanitary (AGROCALIDAD), for which the serological techniques Rose Bengal and competition ELISA. On the other hand, during the sampling information was obtained information regarding the following variables: origin, race, age, age group, which possible associated factors were considered. 5.42 % of animals were positive in the rose bengal test, however no sample was confirmed by ELISA, so the analysis could not be carried out to establish factors associates.

Key words: bovine brucellosis, abortion, zoonosis, immunodiagnosis

3. Introducción

La brucelosis bovina es una enfermedad antropozoonótica de distribución mundial, conocida desde hace muchos años que, sin embargo, continúa siendo un problema sanitario y económico de envergadura; la diversidad de animales portadores de la bacteria responsable complica en gran medida las acciones de lucha contra esta infección. (Riva *et al.*, 2018). La mayor seroprevalencia en Ecuador ha reportado en la zona norte con un 20 % (p 0,05) en ganaderías y un 5,46 % (p 0,05) en bovinos, valores que difieren significativamente con el de las otras zonas del país (Aguayo *et al.*, 2019). Un dato estadístico indica que la prevalencia de brucelosis bovina varía considerablemente entre países, en Latinoamérica las tasas que se registran van desde 0,5 a 10 % (Calderón *et al.*, 2015).

La brucelosis bovina es una enfermedad que afecta no solo económicamente a nivel de ganaderías sino a la salud pública, por lo que la investigación epidemiológica de esta enfermedad permite aportar con estrategias de control y prevención de transmisión entre animales y además dar a conocer a la ciudadanía la presencia de esta enfermedad de transmisión zoonótica para así poder evitar futuros contagios (Gaviria, 2020).

Por lo anteriormente indicado, en la presente investigación se han propuesto los siguientes objetivos:

-)] **Determinar la seroprevalencia de brucelosis bovina en el cantón el Pangui provincia de Zamora Chinchipe.**
-)] **Determinar los factores asociados a la brucelosis bovina en el cantón el Pangui provincia de Zamora Chinchipe.**

4. Marco Teórico

4.1. Etiología de la brucelosis

La enfermedad es causada por bacterias del género *Brucella* que están relacionadas filogenicamente con patógenos y simbiontes vegetales, parásitos intracelulares de los mamíferos y con bacterias oportunistas y ambientales. Hasta hace muy poco tiempo dicho género incorporaba 6 especies consideradas “clásicas”: *Brucella melitensis* (que infecta principalmente al ganado ovino y caprino, pero también al bovino), *Brucella abortus* (bovino), *Brucella suis* (porcino), *Brucella canis* (perro), *Brucella neotomae* (roedores) y *Brucella ovis* (ovino) (Blasco, 2018).

El género *Brucella* es un grupo de bacterias gram negativas que presentan forma de bacilos cortos de 0.5 a 0.7 mm de diámetro y 0.5 a 1.5 mm de largo, se pueden observar aislados, en pares, en cadenas cortas o grupos, al emplear la tinción de Stamp o Ziehl Neelsen modificada se tiñen de color rojo y conservan la misma morfología, no poseen capsula verdadera o endoesporas, carecen de flagelo y pili, por lo que son inmóviles (Martínez *et al.*, 2015).

Debido a sus características estructurales *Brucella* spp. tiene la capacidad de crecer en medios sólidos con colorantes como fusina básica, tiónina, safranina y violeta de etilo dependiendo de la especie, su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C en un pH de 6.6 a 7.4 a pesar de ser considerado un organismo fastidioso por sus requerimientos en el cultivo puede crecer en medios nutritivos mínimos en donde las colonias pueden ser transparentes, elevadas, convexas, con un borde completo y una superficie lisa y brillante (Freer *et al.*, 2001).

4.2. Formas de transmisión

4.2.1. Transmisión horizontal

La vía de invasión más frecuente es el tracto gastrointestinal, por ingestión de pastos, forrajes y agua contaminados por *Brucella* además, las vacas tienen la costumbre de lamer membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, que contienen todos ellos gran número de bacterias y constituyen una fuente de infección muy importante; el hábito de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección (Solano, 2022).

La principal forma de contagio es por vía digestiva por la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas sin embargo, la brucelosis bovina no es una enfermedad venérea (Samartino, 2016).

4.2.2. Transmisión vertical

Brucella spp. puede infectar al feto por vía vertical en el interior del útero a través de la deglución del líquido amniótico, produciendo lesiones inflamatorias en el estómago, intestino delgado y en diversos parénquimas con ulterior muerte del feto; en las circunstancias de pérdida del intercambio gaseoso y nutritivo de los tejidos placentarios, la gestación llega a término con el feto maduro, o si nace el ternero es débil y falta de vitalidad, no tardando en morir; es factible que en la transmisión vertical nazca un ternero sano aparentemente, infectado por el agente brucelar y sin anticuerpos específicos detectables, que al sobrevivir se convierta en animal portador y se introduzca en la cadena epidemiológica de la infección. En cuanto al útero vacío (no gestante) resalta que no es un órgano adecuado para la multiplicación del agente brucelar (Ordóñez, 2021).

4.3. Periodo de incubación

En el ganado bovino se suelen producir abortos y mortinatos entre dos y cinco semanas después de la infección. Generalmente, las pérdidas reproductivas ocurren durante la segunda mitad de la gestación; por lo tanto, el periodo de incubación es mayor cuando los animales se infectan al comienzo de la misma (Andino *et al.*, 2017).

4.4. Patogenia

Las bacterias del género *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos, y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos; esto justifica la naturaleza crónica de la infección ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas tanto fagocíticas como no fagocíticas. Cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares y macrófagos como parte de la inmunidad innata (Castro *et al.*, 2005).

Los mecanismos de ingreso de la bacteria a las células no están suficientemente aclarados, aunque se presume que el LPS 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 avidez de *Brucella* por los mismos (Martínez *et al.*, 2008).

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-, el cuadro clínico y la evolución de la infección varían en función de la especie animal afectada (Ospina, 2018).

4.5. Respuesta inmunológica

Una vez que la bacteria alcanza el medio intracelular, desarrolla estrategias para su supervivencia, como permanecer en el fagosoma intacto y bloquear la fusión posterior con el lisosoma, por la presencia de la cadena O y los lípidos de ornitina que interactúan directamente con la membrana del fagosoma y de esta forma se protege de la acción de los péptidos catiónicos y enzimas líticas presentes en los gránulos lisosómicos (Izquierdo, 2004).

Paralelamente, las bacterias deben resistir los potentes intermediarios del oxígeno (peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos), formados en los fagocitos durante la explosión respiratoria que acompañan a la fagocitosis para la destrucción de las bacterias ingeridas, por esta razón la superóxido dismutasa y la catalasa, enzimas presentes en *Brucella*, se integran en el mecanismo de defensa frente a la toxicidad oxidativa.

Otra forma de evadir este mecanismo bactericida del huésped es la inhibición de la explosión respiratoria, o provocar una respuesta muy débil y de corta duración, esta estrategia es adoptada principalmente por *Brucella abortus* (Centeno, 2002).

En la infección por bacterias gramnegativas las células del huésped se exponen a dos antígenos diferentes el LPS y las proteínas de la pared celular, los que ejercen diferentes formas de activación del sistema inmune. Los antígenos proteicos se localizan en

compartimentos intracelulares de las células presentadoras de antígeno (CPA), como los macrófagos, las células asesinas y las células dendríticas, los cuales son procesados a pequeños péptidos, que se asocian con moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) de clase I ó II, ser presentados en la superficie de las CPA y reconocidos por los linfocitos T. El LPS es un antígeno T-independiente capaz de activar los linfocitos B (LB) para la producción de anti- cuerpos (Gómez *et al.*, 2019).

4.5.1. La inmunidad mediada por células (IMC)

Es la responsable del control de la infección; *Brucella abortus* es una fuerte inductora de la inmunidad celular tipo I por su capacidad para estimular la producción de interleucina-12 (IL-12) en macrófagos, por la interacción del LPS con el receptor CD14, la cual estimula a las CA y a los linfocitos T CD4+ (LTCD4+) a secretar más interferón gamma (IFN-delta, los linfocitos T citotóxicos (LTc) CD8+ activados por el IFN-alfa.

Liberan las sustancias grazina y perforina, que facilitan la lisis del macrófagos para que las bacterias queden libres y sean fagocitadas por macrófagos activados (Izquierdo, 2004).

4.5.2. La inmunidad humoral

En rumiantes, la participación de los anticuerpos en la protección es difícil de evaluar. Los animales en contacto con *Brucella lisa* responden con la producción de anticuerpos dirigidos contra diferentes componentes del microorganismo, pero especialmente contra los antígenos superficiales, en particular contra el LPS-S (Aníbal, 2006).

4.6. Signos clínicos

Los signos más evidentes en vacas preñadas incluyen aborto, nacimiento de terneros débiles y descargas vaginales; no todas las vacas infectadas abortan, pero las que abortan lo hacen generalmente entre el quinto y séptimo mes de gestación, a pesar de que sus terneros pueden parecer saludables, las vacas infectadas continúan albergando la infección y excretan organismos infecciosos en la leche y en las descargas uterinas por toda la vida. Otros signos incluyen la retención de placenta, infecciones uterinas, tasas de concepción

bajas y disminución en la producción de leche en las vacas, y orquitis en los toros (inflamación de uno o ambos testículos) (Rivera, 2001).

4.7. Lesiones post mortem

En la necropsia se puede hallar lesiones inflamatorias granulomatosas en el tracto reproductivo, la ubre, los nódulos linfáticos supramamarios, otros tejidos linfoides, y algunas veces en las articulaciones y las membranas sinoviales, se puede observar endometritis leve a grave después de un aborto. La placenta suele estar engrosada y edematosa, y puede presentar exudado en la superficie, generalmente la región intercotiledonaria es ápera, con apariencia húmeda y engrosamiento focal, los nódulos linfáticos regionales pueden estar agrandados y la glándula mamaria puede contener lesiones el hígado puede mostrar agrandamiento y decoloración, y los pulmones pueden presentar pleuritis fibrinosa y neumonía (Freitas *et al.*, 2019).

4.8. Diagnóstico

4.8.1. Diagnóstico bacteriológico

Para establecer un correcto diagnóstico de laboratorio, ante la sospecha de brucelosis, se toman en los animales vivos, muestras de sangre, de calostro, de leche, del flujo vaginal, de la placenta, de los cotiledones, de semen, líquidos de abscesos de higromas o bursitis y en el caso de epididimitis, de testículos y de epidídimo. En caso de material abortado se debe coleccionar el contenido estomacal, pulmón, bazo de los fetos abortados y membranas fetales. De los animales muertos se toman los nódulos linfáticos, hepáticos, mesentéricos submaxilares, retrofaríngeos entre otros, bazo e hígado (Bérgamo *et al.*, 2012). Cuando se pretende el aislamiento de *Brucella* spp., no se adicionan antibióticos a las muestras coleccionadas, las mismas se deben trasladar lo más rápido posible al laboratorio (antes de las 24 horas) refrigeradas o congeladas (Izquierdo, 2004).

El diagnóstico bacteriológico es un procedimiento laborioso, largo y costoso, que no se utiliza como diagnóstico de rutina. En la brucelosis el aislamiento e identificación de las brucelas se realiza por:

- J Observaciones microscópicas de extensiones o frotis: se realizan por examen microscópico directo de frotis de tejidos o fluidos biológicos que previamente se fijan con calor o etanol. En la identificación de la morfología de la brucelosis se utilizan la tinción de Gram o el método de Ziehl-Neelsen modificado por Stamp, pero con frecuencia toman pobremente la contra tinción y son resistentes a la decoloración por ácidos débiles (Jerke *et al.*, 2019).
- J Cultivo en diferentes medios: Las brucelas al microscopio se observan como cocobacilos o bacilos cortos, Gramnegativos que miden de 0,6 a 1,5 μm de longitud y de 0,5 a 0,7 μm de ancho. En la interpretación de los resultados se debe establecer el diagnóstico diferencial con las especies de bacterias que presentan una morfología similar a *Brucella* (Losada *et al.*, 2007) .
- J La inoculación experimental en animales: El aislamiento de *Brucella abortus* se realiza mediante diferentes medios de cultivo como son:
 - J Medio basal (medio basal de *Brucella*, agar soya triptosa o triptona, agar sangre, agar columbia, agar dextrosa suero, agar dextrosa glicerol y el medio Castañeda).
 - J Medios selectivos (medio Farrell y medio Thayer -Martin modificado).
 - J Medio de enriquecimiento (caldo dextrosa suero, caldo soya triptona y caldo *Brucella*).

4.8.2. Diagnóstico serológico

En los programas de control y erradicación de la brucelosis cada país emplea una o dos pruebas serológicas en el pesquisaje de anticuerpos y los resultados positivos son confirmados por pruebas más específicas .

Las principales pruebas serológicas que se emplean en el diagnóstico de brucelosis bovina son las siguientes:

- J Prueba de aglutinación con y sin 2-mercaptoetanol.
- J Prueba de Rosa de Bengala.
- J Ring Test.
- J Fijación de Complemento.
- J ELISA indirecta.
- J ELISA de Competencia o Competitiva.

) Fluorescencia Polarizada (Losada *et al.*, 2007)

4.8.3. Rosa de Bengala

Esta técnica de aglutinación en placa también conocida como prueba de tarjeta (Card Test) o prueba de antígeno tamponado, de tipo cualitativa, cuyo principio está basado en la aglutinación que se produce cuando el suero estudiado contiene anticuerpos contra *Brucella abortus* y es confrontado con el antígeno de Rosa de Bengala en iguales proporciones (Flecher, 2018).

4.8.4. ELISA

Existen diferentes clasificaciones para los ELISA, algunas de ellas contradictorias, aunque basadas fundamentalmente en los principios de reacción. Los ELISA pueden ser competitivos o no competitivos.

En los ensayos competitivos, los anticuerpos o los antígenos son inmovilizados sobre la fase sólida y su unión con el conjugado antígeno-enzima o anticuerpo-enzima, es inhibida por la presencia de analito no marcado en la muestra. Las incubaciones entre muestras y conjugados pueden ser simultáneamente o secuenciales. Esta última variante no es estrictamente competitiva, con ella se alcanza una mayor detectabilidad y es recomendada cuando se quieren detectar anticuerpos de baja afinidad. En general, la sensibilidad y detectabilidad de estos ensayos es inferior a otras técnicas de Elisa (Azze, 2008).

La prueba ELISA se basa en varias teorías: 1) El antígeno y anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su reactividad inmunológica; 2) las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligando; 3) La actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento; y 4) Las enzimas no están presentes en el líquido biológico que se va a analizar (Vázquez, 2004).

El procedimiento de la prueba tiene su fundamento en que las muestras de suero son expuestas a un antígeno lipopolisacáridos de *Brucella abortus* lisa (S-LPS) unido al fondo de

los pozos de una microplaca de poliestireno, conjuntamente con la adición de un anticuerpo monoclonal de ratón específico para un epítipo sobre una porción del polisacárido o del antígeno S-LPS (D'Pool *et al.*, 2004).

4.9. Tratamiento

A pesar de los extensos estudios realizados en los últimos 15 años, la terapia antibiótica óptima para el tratamiento de la brucelosis esta aún en discusión debido a la fisiopatología de la enfermedad, relación hospedero – parásito, efectividad y costo del tratamiento y el riesgo zoonótico. 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 (Zuluaga, 2016).

4.10. Prevención y Control

4.10.1. Vacunas con cepa 19 de *Brucella abortus*

Se utiliza como una vacuna viva que por lo general se suministra a terneras entre 3 y 6 meses de edad como una dosis única subcutánea de 5-8 x 10 elevado a la 10 microorganismos viables, con el inconveniente de que algunos animales desarrollan títulos duraderos de anticuerpos y pueden abortar y excretar la cepa vacunal por la leche. De igual manera, los animales a los que se ha vacunado con esta cepa y no se encuentran dentro del rango de edad establecido, en los diagnósticos causan la presencia de falsos positivos permanentemente, dificultando y alargando el diagnóstico de la enfermedad y la posterior eliminación de los animales positivos, que en algunos casos pueden ser verdaderos negativos. La vacuna con *Brucella abortus* cepa 19 induce una buena inmunidad frente a desafíos moderados por microorganismo virulento (Quishpi, 2017).

4.10.2. Vacunas con la cepa RB51 de *Brucella abortus*

La vacuna RB51 no produce interferencia con los anticuerpos de animales enfermos al momento de realizar las pruebas de diagnóstico normales, esto es, que, si después de vacunar con RB51 se realiza pruebas serológicas, los animales que resultan positivos son portadores de la enfermedad (cepa de campo), por lo que deberá ser eliminados. La vacuna cepa RB-51, es una cepa rugosa estable que fue desarrollada a partir de la cepa lisa S-2308.

La ausencia de la cadena O evita la generación de anticuerpos que puedan ser detectados por las pruebas diagnósticas de rutina, a diferencia de la vacuna cepa-19 que si lo hace (Quishpi, 2017).

4.11. Impactos en el mundo

La brucelosis bovina es endémica en la mayoría de los países del planeta, exceptuando aquellos que han efectuado programas de erradicación como: Canadá Inglaterra y los países del Norte de Europa. En Sudamérica, Uruguay es el que tiene la menor pre- valencia, presentándose casos esporádicos; Argentina comenzó un programa de control de la enfermedad, al igual que algunos esta- dos de Brasil (Lopetegui, 2005).

La brucelosis animal constituye un serio problema económico, ocasionando pérdidas importantes y causando alteraciones en el comercio internacional de animales. Estas razones han llevado a todos los países del mundo a luchar contra este azote, o al menos a reflexionar acerca de sus posibilidades de erradicación en función de los medios disponibles (Falcón, 2014).

Como resultado de ello, varios países se encuentran en la actualidad indemne de brucelosis o en proceso de erradicación de la misma , mientras que otros, si bien son conscientes del problema, aún no han podido emprender una acción coherente hay que reconocer que se trata de una tarea a la vez difícil, debido a las dificultades en el diagnóstico, larga a causa de las recontaminaciones y costosa por las medidas que hay que aplicar y los sacrificios de animales que acarrea (Falcón, 2014).

En términos de pérdidas indirectas, la industria pecuaria es, básicamente, productora de alimentos para el ser humano, por lo que la comercialización nacional o internacional de estos productos exige que los alimentos sean inocuos. Luego, a mayor cantidad de predios infectados de brucelosis en el país, se dificultan seriamentelas expectativas de exportación de leche y sus derivados, restandole competitividad al rubro (Gambaudo, 2014).

Ecuador, considerado como un país ganadero que posee tanto ganado lechero estabulado como rústico. En un reporte del Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria de abril del 2002, manifiesta que la brucelosis causada por *Brucella abortus* está difundida en mayor o menor grado en todo el país, causando pérdidas que sobrepasan los 3'000.000 de dólares

anuales que corresponden 18 % de la población de ganado bovino que está afectada por esta enfermedad Rosero *et al.* (2011).

5. Metodología

5.1. Delimitación del área de estudio.

La presente investigación se realizó en las parroquias: Tundayme, El Güismi, El Pangui y Pachicutza pertenecientes al cantón El Pangui de la provincia Zamora Chinchipe, ubicada al sur de la amazonia ecuatoriana de posición geográfica UTM (WGS84): latitud 781816, longitud 9605795 y altitud 820 msnm. Encontrándose a una altitud de 815 m.s.n.m. El cantón se caracteriza por poseer un clima húmedo y semihúmedo tropical, con temperaturas promedio anuales de 20°C-24°C, y con precipitaciones medias anuales de 1.500 a 2.500 mm³ (Muyulema, 2020).

5.2. Diseño de la investigación

El presente trabajo es un estudio observacional de corte transversal, el cual tuvo como propósito estimar la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados a la misma; para lo cual se emplearon muestras de suero bovino que eran conservados en la Universidad Nacional de Loja, obtenidos a partir de muestras de sangre recogidas entre mayo y julio del año 2019.



Figura 1. Mapa del cantón el Pangui y su división parroquial

5.3. Determinación del tipo de muestreo

Originalmente el muestreo a continuación descrito fue realizado para el estudio epidemiológico de leptospirosis en el cantón El Pangui (Muyulema, 2020); sin embargo

considerando la importancia de los problemas reproductivos en la zona de estudio se derivaron otras investigaciones, como la que se presenta en este documento.

El muestreo fue realizado por etapas. La primera etapa consistió en la selección aleatoria de conglomerados representados por los predios (unidades primarias de muestreo), seleccionados de forma aleatoria proporcionalmente al número de cada parroquia, el marco muestral consiste en la lista de las explotaciones bovinas proporcionadas por AGROCALIDAD (Zamora). Mientras que las unidades secundarias de muestreo fueron las hembras bovinas seleccionadas según los criterios de inclusión, de forma aleatoria y proporcionalmente al tamaño de la explotación (no menos del 25 por ciento de los animales de interés).

5.4. Tamaño muestral.

El número inicial de animales muestreados fue de 213. Calculado con la ayuda de la plataforma WinEpi 2.0, mediante la fórmula para estimar proporciones, considerando un nivel de confianza del 95 %, una proporción esperada de la infección del 50 % y un error absoluto esperado del 7 %. Además, el tamaño de muestra calculado fue incrementando en un 15 %, dados los objetivos de la investigación (Muyulema, 2020).

Las muestras destinadas para el diagnóstico de brucelosis bovina fueron 166, ya que fueron las que se encontraron en cantidad suficiente para el protocolo de diagnóstico establecido.

5.5. Variables de estudio.

Las variables independientes consideradas fueron: raza, procedencia, tamaño de predio, tipo de la explotación, número de partos, tipo de reproducción, presencia de abortos en el último año, infertilidad, partos prematuros. Por otro lado, la variable dependiente fue el diagnóstico de brucelosis bovina (Positivo/Negativo).

5.6. Toma y registros de datos

5.6.1. Encuesta epidemiológica

Los datos generales del predio fueron registrados en un formulario individual gracias

a la información proporcionada por los dueños de las fincas ganaderas. En la encuesta aplicada se recogió la información necesaria para el registro de cada una de las variables independientes antes indicadas.

5.7. Toma y transporte de muestras

De cada uno de los animales seleccionados para el estudio se extrajo una muestra de sangre de la vena coccígea, que se la depositó en tubos vacutainers de 10 ml sin anticoagulante, las muestras se rotularon de acuerdo al código asignado o datos de animal y fueron transportadas en un termo a una temperatura de +2°C a +8°C en menos de 12 horas hasta la ciudad de Loja.

5.8. Análisis de laboratorio

Las muestras de sangre fueron procesadas por centrifugación a 1500 G durante 5 minutos, y el suero obtenido fue mantenido en congelación a -20°C hasta que se realizó el diagnóstico de brucelosis bovina. Las muestras de suero fueron conservadas en condiciones adecuadas y debidamente rotuladas y registradas hasta que fueron remitidas a los laboratorios de AGROCALIDAD para su debido procesamiento.

5.9. Tamizaje de muestras positivas mediante rosa de bengala

El diagnóstico de brucelosis bovina mediante rosa de bengala, se realizó de acuerdo al protocolo establecido por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosológico: (PEE/Se/05), código que hace referencia a la técnica tamiz o de screening, en la que se emplea el reactivo que contiene bacterias muertas coloreadas con rosa de bengala para detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* mediante la detección de la reacción de aglutinación en placa.

Después de homogenizar adecuadamente cada tubo con muestra de suero sanguíneo, se procedió a tomar 0,30 µl de suero y 0,30 µl de reactivo rosa de bengala, para colocar ambas partes en una placa de cristal con medidas de 25.5 cm de largo, y 18 cm de ancho. Luego de cuatro minutos en agitación, se procedió a someter a la placa de cristal a un campo oscuro con luz de fondo para identificar adecuadamente la reacción de aglutinación, que en

los casos en que fue detectada se reportaron resultados positivos (AGROCALIDAD, 2019).

5.10. Confirmación de brucelosis bovina mediante ELISA de competición

La prueba de ELISA empleada fue el Inmunoensayo enzimático Competitivo en fase sólida (ELISA-C) (SVANOVIR®Brucella- Ab C-ELISA) que tienen una sensibilidad y especificidad del 95,5 al 100 %, y que está diseñado para detectar anticuerpos específicos contra *Brucella abortus* en muestras de sueros de diferentes especies animales, es un ensayo multiespecies ideal para usar en situaciones de baja y alta prevalencia de brucelosis y para confirmar los resultados de las pruebas de detección en rebaños . El ensayo es capaz de diferenciar entre los anticuerpos de vacunación (S19) y los que resultan de la infección por *Brucella* (INDICAL BIOSCIENCE, 2020).

5.11. Definición de caso

Los animales cuyas muestras resultaron positivas a la técnica de rosa de bengala y ELISA competitivo, fueron considerados positivos a brucelosis bovina.

5.12. Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para el cálculo de promedios y porcentajes de acuerdo a los requerimientos de cada variable. Para determinar la asociación entre la variable dependiente y las independientes, se consideró emplear las pruebas de bondad de ajuste Chi cuadrado y/o Test de Fisher tomando en cuenta valores de p inferiores o iguales a 0,05 como estadísticamente significativo; todo esto, mediante el uso del programa “R studio” versión 3.6.2 de libre acceso.

6. Resultados

6.1. Resultados del tamizaje de casos positivos mediante Rosade Bengala.

En la tabla 1 se muestran los resultados del procesamiento de las muestras de bovinos en la técnica Rosa de Bengala, a través de la cual se identificaron 9 casos positivos de 166 animales, equivalentes a (5,42 %).

6.2. Resultados del diagnóstico de brucelosis bovina mediante ELISA.

De acuerdo a la definición de casos expresada en la parte metodológica de este documento, ningún caso fue confirmado como positivo, ya que todas las muestras fueron negativas en Elisa de competición; por lo que la seroprevalencia de brucelosis bovina en el cantón El Panguí es del 0 %.

6.3. Factores asociados a la brucelosis bovina en el cantón El Panguí.

Dados los resultados de la seroprevalencia no fue posible hacer la determinación de los factores asociados con las variables previamente propuestas (raza, procedencia, tamaño de predio, tipo de la explotación, número de partos, tipo de reproducción, presencia de abortos en el último año, infertilidad y partos prematuros).

7. Discusión

La provincia de Zamora Chinchipe cuenta con un clima cálido húmedo (INEC, 2010) que favorece la transmisión de la enfermedad. Las bacterias del género *Brucella* pueden sobrevivir por largos periodos de tiempo en condiciones de alta humedad y bajas temperaturas (Ojeda Gutierrez, 2017); al respecto Castro *et al.* (2005) considera que la sobrevivencia del agente brucelar en tierra húmeda a temperatura ambiente, se da por un lapso de 66 días.

En base a lo antes descrito, a pesar de que las condiciones climáticas de la zona en estudio se prestan para el mantenimiento del agente en el medio ambiente, en esta investigación no se encontraron casos positivos a brucelosis; lo que podría estar relacionado con el manejo extensivo que se practica en las ganaderías de la amazonía ecuatoriana Jaramillo *et al.* (2013)

Llaguno Tovar (2015) menciona que en zonas bajas del Ecuador existen prevalencias de brucelosis bovina del 1 % mientras que en zonas altas es de hasta el 10 %; de esta manera se ha dividido el país de acuerdo a la prevalencia en 5 regiones; siendo la región 4 comprendida por: Sucumbíos, Napo, Orellana, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe la que cuenta con prevalencias de 1- 2 %; lo que es coherente con los resultados encontrados en este estudio.

Con respecto al diagnóstico descrito en este trabajo, es importante recordar que rosa de bengala se basa en la detección por aglutinación macroscópica de la reacción antígeno-anticuerpo específica para *Brucella spp*, pues el colorante hace más fácil la demostración de la presencia de aglutinación, siendo un procedimiento cualitativo rápido que detecta principalmente los anticuerpos tipo IgM e IgG1 (Martinez *et al.*, 2012), sin embargo es probable que la sensibilidad de la prueba disminuya en animales infectados con patógenos que produzcan reacciones cruzadas con *Brucella spp*.

Por lo tanto, es probable que los resultados encontrados mediante rosa de bengala se deban a reacciones cruzadas (falsos positivos) con otras bacterias Gram negativas como:

Escherichia coli, *Pasteurella* spp, *Haemophilus*, *Francisella* spp, *Salmonella* spp *Campylobacter*; aunque también se ha sugerido este tipo de reacciones por el empleo de bacterinas elaboradas con estos microorganismos (Garin-Bastuji, 1993).

Los anticuerpos resultantes de la vacunación con Cepa 19 de *B. abortus* y algunos anticuerpos que producen reacciones cruzadas son detectadas por esta prueba, por lo que es necesario utilizar otras pruebas para confirmar animales reactivos e infectados (Rosero *et al.*, 2011); al respecto es importante indicar que los animales seleccionados como parte de este estudio no tenían inmunizaciones contra brucelosis.

Como se indicó anteriormente, existen reportes de reacciones serológicas no específicas en bovinos no infectados con *Brucella* atribuidas a infecciones con microorganismos Gram negativos, sin embargo, también se han encontrado títulos no específicos en hembras bovinas adultas seronegativas que recibieron una vacuna formulada en adyuvante oleoso contra el complejo respiratorio IBR, DVB, PI3, *M. haemolytica*, *P. multocida* y *H. somni*. La semejanza que existe entre la estructura química del OPS de estas bacterias y *Brucella*, es responsable de la mayoría de las reacciones cruzadas observadas (Soto *et al.*, 2012).

Rosa de bengala se considera útil para el tamizaje individual de animales. Aunque pueden aparecer falsos positivos, los falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado (Rosero *et al.*, 2011).

De acuerdo al trabajo de algunos investigadores, las múltiples comparaciones de técnicas inmunoenzimáticas realizadas sugieren la utilización del ELISA indirecto como prueba tamiz de elevada sensibilidad con respecto a Rosa de Bengala y de ELISA competitivo con respecto a fijación de complemento como prueba confirmatoria (Mejía y Flores, 2012); por lo que es importante recordar que en la prueba confirmatoria de ELISA de competición ningún caso pudo ser corroborado.

El tiempo y las condiciones de almacenamiento de las muestras influyen sobre los resultados del diagnóstico serológico, sin embargo, en esta investigación se tomaron en cuenta las sugerencias establecidas en el Manual de Procedimiento Específico de Ensayo para Diagnóstico de Brucelosis. Mediante la prueba de Rosa de Bengala de AGROCALIDAD, así

pues, la muestra debe llegar al laboratorio bajo las condiciones establecidas en el instructivo INT/DA/01.

Liebert (2014) sugiere que la prevalencia de brucelosis humana en Ecuador se encuentra sub reportada, desde el año 2008, en el país. La subnotificación por parte de productores es posible atribuirla a la falta de educación sanitaria sobre la brucelosis bovina y las consecuencias productivas económicas y de salud pública, por lo que a pesar de los resultados encontrados en esta investigación, deben procurarse investigaciones de carácter epidemiológico y mantenerse acciones de vigilancia.

Díaz y Lamiña (2013) en su estudio determinaron que las variables: tipo de producción, categorías de explotación, sistema de reproducción, densidad poblacional, sexo, edad, raza, vacunación, presencia de abortos, no son factores de riesgo asociados a la enfermedad en la provincia de Zamora Chinchipe, coincidiendo con lo encontrado en esta investigación.

8. Conclusiones

- Ñ La seroprevalencia de la brucelosis bovina en el cantón el Panguí provincia de Zamora Chinchipe es del 0 %; ya que fue del 5.42 % en la prueba de identificación de rosa de bengala, pero en su confirmación por la prueba de ELISA de competición fue de 0 %.
- Ñ Los factores asociados a brucelosis bovina no fueron determinados, dados los resultados de la seroprevalencia.

9. Recomendaciones

- J) Proyectar, asesorar y educar a los productores y ganaderos a un manejo sustentable y sostenible de acuerdo a los lineamientos que las diferentes entidades encargadas de la sanidad animal buscan ejecutar en el país; recomendando la utilización pertinente de vacunas y procesos de saneamiento, control de calidad en el transporte, faenamiento y manejo de los predios y productos de derivación animal con el fin de evitar el contagio o presencia de enfermedades como la brucelosis.

- J) Mejorar los métodos de control del flujo de venta de animales, su identificación y registro, pues esto facilitará de manera significativa el panorama de información sobre la presencia de enfermedades que resulten un problema para la salud pública y su pertinente control.

10. Bibliografía

- AGROCALIDAD, C. (2019). Ministerio de agricultura, ganadería, acuacultura y pesca. *PEE/SE/05 Manual de procedimiento específico de ensayo para el diagnóstico de brucelosis bovina.*
- Aguayo, M. D. Z., RenÃ, R., MejÃa, V., FabiÃ, P., Suarez, G. A. N., AlcÃvar, E. R. Z., y cols. (2019). Estudio de la seroprevalencia de brucelosis bovina en las zonas norte, centro y sur de la provincia Manabí, Ecuador. *UNESUM- Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria. ISSN 2602-8166*, 3(3), 129–136.
- Andino, y cols. (2017). *Prevalencia de brucella abortus, en bovinos de 5 fincas, en la comunidad de poneloya, municipio de león, de junio 2016-febrero 2017* (Tesis Doctoral no publicada).
- Aníbal, R. (2006). Nueva vacuna contra la brucelosis. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 40(1), 83–88.
- Azze, R. F. O. (2008). *Bases metodológicas para la evaluación de anticuerpos en ensayos clínicos de vacunas mediante técnicas inmunoenzimáticas.* Finlay.
- Blasco, J. M. (2018). Brucelosis bovina: una grave enfermedad que ya es historia en Aragón. *Artículo de opinion, y experiencias, Centro de investigación y tecnologías agroalimentarias de Aragón.*
- Bégamo, J., y cols. (2012). Universidad nacional de río cuarto universidad nacional de río cuarto.
- Calderón, A., Angulo-Maza, L. A., Tique-Salleg, V. P., Rodríguez-Rodríguez, V. C., y Ensuncho-Hoyos, C. F. (2015). Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. *Orinoquia*, 19(2), 203–209.
- Castro, H. A., González, S. R., y Prat, M. I. (2005). Brucelosis: una revisión práctica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(2), 203–216.
- Centeno, H. V. (2002). *Determinación de la situación de brucelosis en animales del orden artiodactyla del zoológico nacional "la aurora", bajo el sistema de re-cintos abiertos* (Tesis Doctoral no publicada). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Díaz, A. R. E., y Lamiña, J. Ó. F. (2013). Determinación de la seroprevalencia y análisis de factores de riesgo de brucelosis en bovinos, en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y el Oro.

- D'Pool, G., Rivera Pirela, S. E., Torres, T., Pérez Barrientos, M., García, A., Castejón, O., . . . others (2004). Prevalencia de brucelosis bovina mediante Elisa competitivo en el municipio la cañada de urdaneta, estado zulia, Venezuela.
- Falcón, M. A. (2014). *Determinación de antibióticos en musculo e hígado de reses faenadas en el camal municipal de Ambato* (tesis de Maestría). Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Flecher, J. R. (2018). *Diagnóstico de incidencia de brucelosis en ganado bovino mediante la técnica rosa de bengala en el sitio garrapatilla del cantón chone*. (Tesis Doctoral no publicada).
- Freer, y cols. (2001). Brucella: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 22(1-2), 73–82.
- Freitas, y cols. (2019). Caracterización de la brucelosis bovina en Uruguay en el período 2014-2018.
- Gambaudo, S. (2014). *Diseño, implementación y certificación de sistema de gestión de inocuidad alimentaria en planta de alimentos balanceados para la nutrición animal* (Tesis Doctoral no publicada). Universidad Católica de Córdoba.
- Garin-Bastuji, B. (1993). Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés: Le cas des séologies atypiques en brucellose bovine. *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formato permanente*, 25(152), 23–32.
- Gaviria, O. (2020). Factores de riesgo asociados a la seropositividad a brucella abortus en ganaderías del departamento de putumayo, Colombia.
- Gómez, M., y cols. (2019). El rol del microbiota intestinal. *Biociencias*, 3(1), 1–29.
- INDICAL BIOSCIENCE, G. (2020). *Indical bioscience: Svanovir brucella-ab c-elisa (2 elisa plates): Online shop*. © 2020 INDICAL BIOSCIENCE GmbH. Descargado de <https://shop.indical.com/en/svanovir-brucella-ab-c-elisa-2-elisa-plates.html>
- ?&listtype=search&searchparam=svanovir&redirected=1
- INEC. (2010). *Instituto nacional de estadística y censo*. INEC 2010. Descargado de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/base-censo-2010/>
- Izquierdo, M. (2004). Normalización y evaluación del inmunoensayo abicapbru para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*, 1695, 7504.
- Jaramillo, B., y cols. (2013). Determinación de seroprevalencia de brucelosis bovina en la provincia de pastaza y posibles factores de riesgo asociados con la enfermedad.

- Jerke, G., Horianski, M. A., Castrillo, M. L., y Chade, M. E. (2019). Guía de prácticas de laboratorio: cátedra de microbiología e inmunología/plan 1992: carrera de licenciatura en genética/2019.
- Liebert, e. p. N. R. N. . E. U., Ann Mary Inc. 140 Huguenot Street (Ed.). (2014). Brucelosis humana en el noroeste de ecuador: tipificación de *Brucella* spp., seroprevalencia y factores de riesgo asociados. *Enfermedades transmitidas por vectores y zoonóticas*(2), 124–133.
- Llaguno Tovar, G. G. (2015). Brucelosis, presencia en vacas (2 a 6 años) mediante card test, en tres haciendas, rcto. pajales, cantón pedernales, provincia de Manabí.
- Lopetegui, P. (2005). Avances de la erradicación de brucelosis bovina en Chile. *Boletín Veterinario Oficial, BVO*, 3, 1–14.
- Losada, E. E. O., Cabrera, E. S., y Marquéz, M. I. (2007). Normalización y evaluación del inmunoensayo abicap-bru para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 8(4).
- Martínez, y cols. (2008). *Seroprevalencia de brucelosis en cerdos de traspatio de la zona urbana y suburbana de la ciudad de león en el año 2007* (Tesis Doctoral no publicada).
- Martinez, y cols. (2012). Comparación de las pruebas rosa de bengala y rivanol con elisa para el diagnóstico de brucelosis bovina. *CONACYT*.
- Martínez, y cols. (2015). *Fenotipificación de Brucella microti por métodos microbiológicos clásicos y pruebas de actividad metabólica* (B.S. thesis). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Mejía, K., y Flores, C. (2012). Comparación de las pruebas rosa de bengala y rivanol con elisa para el diagnóstico de brucelosis bovina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(2), 1–14.
- Muyulema, E. (2020). Estudio clínico epidemiológico de leptospirosis en hembras bovinas en edad reproductiva en el cantón El Pangui.
- Ojeda Gutierrez, K. E. (2017). *Identificación molecular de Brucella spp. en muestras de sangre de ganado bovino de la provincia de Zamora Chinchipe*” (Tesis de Master no publicada). Universidad de Guayaquil. Dirección de Posgrado. Maestría en Biotecnología

- Ordóñez. (2021). Determinación de las causas infecciosas que influyen en la baja fertilidad de los bovinos pertenecientes a la granja experimental Tunshi de la escuela superior politécnica de Chimborazo.
- Ospina, J. (2018). Aborto: Causas, diagnóstico y consecuencias.
- Quishpi, B. N. (2017). *Diagnóstico y plan de erradicación de la brucelosis (Brucella abortus) en la hacienda la Isabela de Sasaput Chambo* (B.S. thesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Riva, A., Bertero, V., Bozikovich, C., y Lovesio, C. (2018). Fiebre de origen desconocido; ¿pensamos en brucelosis? *Anuario (Fund. Dr. J. R. Villavicencio)*. 2018;26:138-141.
- Rivera, H. (2001). Causas frecuentes de aborto bovino. *Revista de investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 117–122.
- Rosero, P., y cols. (2011). Determinación de brucelosis bovina (*Brucella abortus*) con la prueba de campo rosa de bengala en la asociación unión libre de la parroquia 10 de agosto provincia de Pastaza.
- Samartino, L. (2016). Brucelosis bovina. *XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría*.
- Solano, A. (2022). Brucelosis bovina en la cuenca lechera del distrito 9 de Cochabamba.
- Soto, P., Díaz, A., y Estein, S. (2012). Estudio de la interferencia serológica en el diagnóstico de la brucelosis bovina en el modelo murino. *InVet*, 14.
- Vázquez, G. E. (2004). V. las pruebas de elisa. *Gaceta Médica de México*, 140(S3), 48–49.
- Zuluaga, M. A. (2016). *Reproducción y neonatología bovina en la hacienda la vittoriana, Córdoba-Colombia* (Tesis Doctoral no publicada). Corporación Universitaria Lasallista.

11. Anexos

Tabla 1. Resultados Rosa de Bengala

Variable	Negativos #	Negativos %	Positivos %	Total		
	Positivos #					
Parroquias con Resultados positivos						
Abdón Calderón	0	0	2	100	2	
Pachicutza	44	97.78	1	2.22	45	
Pachikytza	8	80	2	20	10	
Santa Rosa	3	75	1	25	4	
Tundayme	21	100	0	0	21	
Wachapa	2	66.67	1	33.33	3	
San Isidro	1	50	1	50	2	
La Delicia	6	85.71	1	14.28	7	
Raza						
Brown Swiss	38	100	0	0	38	
Charoláis	47	92.16	4	7.84	51	
Holstein Friesian	34	94.44	2	5.56	36	
Jersey	1	1	0	0	1	
Mestiza	37	92.5	3	7.5	40	
Grupo Etario						
Discriminación por edades entre los 2 y 12 años						
Entre 2 y 4 años		63	96.92	2	3.07	65
Entre 5 y 8 años		85	93.04	6	6.59	91
Entre 9 y 12 años		9	90	1	10	10
TOTAL		157	94.58	9	5.42	166

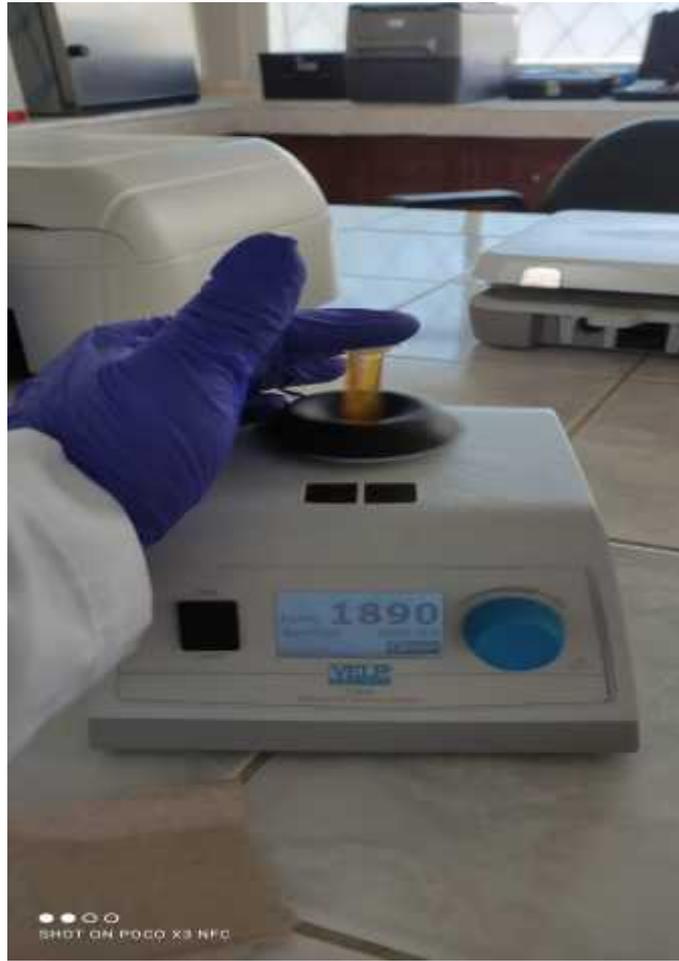


Figura 2. Procesamiento de muestras



Figura 3. Reactivo Rosa de Bengala



Figura 4. Espacio de trabajo



Figura 5. Muestras sometidas a fondo oscuro

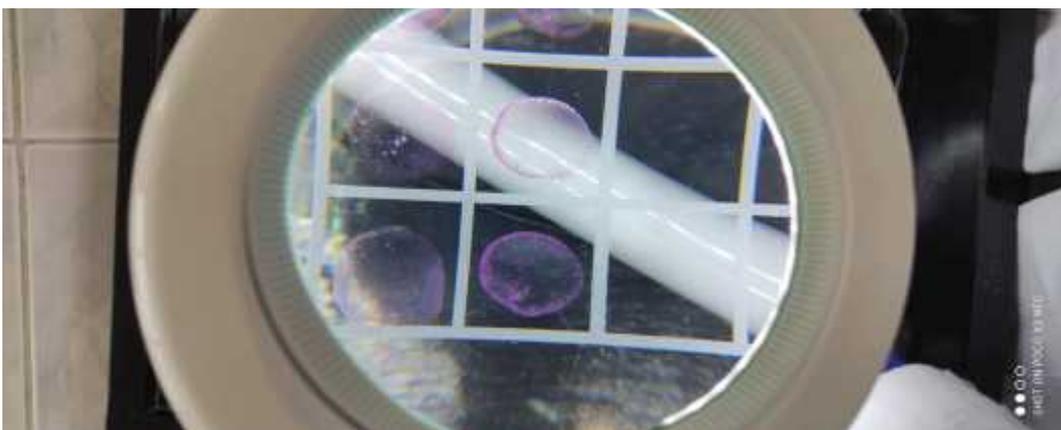


Figura 6. Muestras en Placa con aumento de lupa



Mg. Yanina Quizhpe Espinoza
Licenciada en Ciencias de Educación mención
Idiomas
Magister en Traducción y mediación cultural

Celular: +593989805087
Email: yaniques@icloud.com
Loja, Ecuador 110104.

Loja, 17 de mayo, 2022

Yo, Lic. Yanina Quizhpe Espinoza, con cédula de identidad 1104337553, docente del Instituto de Idiomas de la Universidad Nacional de Loja, y con licencia como traductora registrada en el Ministerio de trabajo del Ecuador MDT-3104-CCL-252640, certifico:

Que tengo el conocimiento y dominio de los idiomas español e inglés y que la traducción del resumen de trabajo de titulación; **Determinación de la seroprevalencia de brucelosis bovina y de los factores asociados en el cantón El Panguí provincia de Zamora Chinchipe**, cuya tutoría del estudiante José Manuel Cruz Castillo, con cédula 1718591553, es verdadero y correcto a mi mejor saber y entender.

Atentamente

Yanina Quizhpe Espinoza.

Traductora

Figura7. Certificado de traducción