

# UNIVERSIDAD DE CUENCA



## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

### TITULO:

Seroprevalencia de *Brucella abortus* como impacto en la reproducción bovina de la provincia del Cañar.

Tesis previa a la obtención del título de  
Magister en Reproducción Animal

**AUTOR:** Mvz. Segundo Matías Mainato Guamán

**DIRECTOR:** Mvz. Antonio Javier Vallecillo Maza, PhD

**CUENCA - ECUADOR**

**2017**



## RESUMEN

El presente trabajo investigativo se realizó en la provincia del Cañar, en 44 hatos de ganadería bovina, distribuidos aleatoriamente en los siete cantones de la provincia, se consideró una población bovina actualizada, mediante el reporte de vacunación contra la Fiebre Aftosa – Fase II 2014, según el cual existen 140.242 bovinos. Bajo el estudio epidemiológico se consideró 447 bovinos ( $n = 447$ ) mayores a 2 años de edad; de las cuales el 93.74% de muestras correspondieron a vacas adultas y el 6.26% de las muestras correspondieron a sementales de cada hato. Las muestras se enviaron al laboratorio de LDR – AZUAY, donde se realizó el método de diagnóstico AgP (Aglutinación en placa), y los casos positivos a esta prueba se enviaron al laboratorio de Sanidad Animal AGROCALIDAD, Tumbaco y se aplicaron los métodos de diagnósticos de; RB (Rosa de Bengala) y ELISA competitiva, para determinar y cuantificar anticuerpos. La prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar, con las pruebas de diagnóstico de; Rosa de Bengala y ELISAc, se asemejan en 4.03 y 4.25% respectivamente y de 29,30% con el diagnóstico de Aglutinación en placa. La prevalencia de hatos con animales seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar, es del 15.90% al diagnóstico de ELISAc y de 13.63 % a la prueba de Rosa de Bengala y 56.81 % con el diagnóstico de Aglutinación en placa. Analizando las variables de la encuesta epidemiológica se determinó que los animales pertenecientes a los hatos donde se presentaron problemas de metritis postparto y animales con esterilidad permanente tienen un mayor riesgo de ser seropositivos a la prueba diagnóstica de RB (13.78 y 5.19 Odds ratio, con un valor de  $p = 0 < 0.05$ ), como factor de impacto en la reproducción bovina. Se estimó las pérdidas económicas totales, por bovino totales y por vacas infectadas con brucelosis bovina según la prevalencia obtenido del presente trabajo.

**Palabras claves:** *Brucella abortus*, SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS, ABORTOS, BRUCELOSIS BOVINA EN CAÑAR, ROSA DE BENGALA Y ELISAc.



### ABSTRACT

The present investigation was carried out in the province of Cañar, in 44 herds of cattle, distributed randomly in the seven cantons of the province, was considered an updated bovine population, through the report of vaccination against FMD - Phase II 2014, According to which there are 140,242 cattle. Under the epidemiological study, 447 bovines ( $n = 447$ ) older than 2 years of age were considered; Of which 93.74% of samples corresponded to adult cows and 6.26% of the samples corresponded to bulls from each herd. The samples were sent to the laboratory of LDR - AZUAY, where the AgP (Plate agglutination test) diagnostic method was carried out, and the positive cases to this test were sent to the AGROCALIDAD, Tumbaco Animal Health Laboratory and diagnostic methods were applied; RB (Bengal Rose test) and competitive ELISA, to determine and quantify antibodies. The prevalence of cattle seropositive to bovine brucellosis in the province of Cañar, with the diagnostic tests of Rose of Bengal and ELISAc were similar in 4.03 and 4.25% respectively and of 29.30% with the diagnosis of plate agglutination test. The prevalence of herds with animals seropositive to bovine brucellosis in the province of Cañar is 15.90% at diagnosis of ELISAc and 13.63% at the Rose of Bengal test and 56.81% with the diagnosis of plate agglutination test. Analyzing the variables of the epidemiological survey, it was determined that the animals belonging to herds where there were problems of postpartum metritis and animals with permanent sterility have a higher risk of being seropositive to the diagnostic test of RB (13.78 and 5.19 Odds ratio, with a Value of  $p =$  or  $< 0.05$ ), as an impact factor in bovine reproduction. Total economic losses were estimated for total cattle population and for cows infected with bovine brucellosis according to the prevalence obtained from the present study.

**Keywords:** *Brucella abortus*, SEROPREVALENCE OF BRUCELLOSIS, ABORTIONS, BOVINE BRUCELLOSIS IN CAÑAR, ROSE OF BENGAL AND ELISAc



## INDICE

<b>Número:</b>	<b>Contenido:</b>	<b>Página:</b>
	RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	1
	ABSTRACT Y KEYWORDS	2
	LISTA DE CONTENIDOS	3
	LISTA DE TABLAS	6
	LISTA DE FIGURAS	7
	LISTA DE FOTOGRAFÍAS	7
	LISTA DE ANEXOS	7
	LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA	8
	CLAUSULA 1	9
	CLAUSULA 2	10
	AGRADECIMIENTOS	11
	DEDICATORIA	12
<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>15</b>
<b>2.1.</b>	Aborto	15
<b>2.2.</b>	Enfermedades reproductivas en vacas lecheras	15
<b>2.3.</b>	Brucelosis bovina	15
<b>2.4.</b>	Etiología	16
<b>2.5.</b>	Sinonimias	17
<b>2.6.</b>	Distribución geográfica de la brucelosis bovina	17
<b>2.7.</b>	Caracterización epidemiológica de la brucelosis en el Ecuador	17
<b>2.8.</b>	Trasmisión de la brucelosis bovina	18
<b>2.9.</b>	Patogenia	19
<b>2.10.</b>	Periodo de incubación	19
<b>2.11.</b>	Signos clínicos	19
<b>2.12.</b>	Diagnóstico	20
<b>2.13.</b>	Diagnóstico directo	20
<b>2.13.1.</b>	Cultivo microbiológico	20
<b>2.13.2.</b>	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	21
<b>2.14.</b>	Diagnóstico indirecto	21
<b>2.14.1</b>	Técnica de Aglutinación en placa (Huddleson)	21
<b>2.14.2.</b>	Prueba de anillo en leche cruda (Ring test)	21
<b>2.14.3.</b>	Prueba Rosa de Bengala (RB)	21
<b>2.14.4.</b>	Prueba de fijación de complemento (FC)	22
<b>2.14.5.</b>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)	22



2.14.5.1	ELISA indirecto (ELISAi)	22
2.14.5.2	ELISA competitivo (ELISAc)	22
2.14.6.	Prueba de precipitación con Rivanol (RIV)	22
2.15.	Tratamiento	23
2.16.	Prevención.	23
2.16.1.	Vacuna con cepa S19 de <i>B. abortus</i> .	23
2.16.2.	Vacuna con cepa RB51 de <i>B. abortus</i> .	23
2.17.	Medidas de control y erradicación de brucelosis bovina	24
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
IV.	JUSTIFICACIÓN	26
V.	HIPÓTESIS	28
VI.	OBJETIVOS	28
6.1.	Objetivo general	28
6.2.	Objetivos específicos	28
VII.	MATERIAL Y MÉTODOS	29
7.1.	Materiales y métodos empleados en la estimación del tamaño de muestras y la selección de los predios de muestreo	29
7.1.1.	Fuente de datos	29
7.1.2.	Valores considerados	29
7.1.3.	Estimación del tamaño de la muestra, aleatorización de los predios muestreados y selección de animales incluidos en el estudio	30
7.2.	Materiales y métodos empleados en la colecta de muestras serológicas y datos en la encuesta aplicada a los responsables de los animales	31
7.2.1.	Materiales de campo	31
7.2.2.	Materiales para la extracción de las muestras	31
7.2.3.	Materiales de laboratorio	31
7.2.4.	Reactivos para el procesamiento de muestras serológicas y determinación de anticuerpos anti- <i>B. abortus</i>	31
7.3.	Proceso de recolección de muestra serológica y aplicación de la encuesta sanitaria Reproductiva en el campo	32
7.3.1.	Proceso de colecta de las muestras serológicas	32
7.3.2.	Clasificación etaria y la raza de bovinos considerados en el muestreo serológico.	32
7.3.3.	Aplicación de la encuesta sanitaria reproductiva en el campo.	34
7.3.4.	Procesamiento de las muestras en los laboratorios	34
7.3.4.1	Laboratorio de LDR – AZUAY de AGROCALIDAD	34
7.3.4.2	Laboratorio de Sanidad Animal AGROCALIDAD – Tumbaco	34
7.3.5.	Procedimientos realizados en casos de animales positivos a brucelosis bovina	35
7.4.	Análisis de los datos obtenidos	36



<b>7.4.1.</b>	Estimación de la prevalencia de animales seropositivos a brucelosis bovina, la prevalencia de hatos con animales seropositivos y la prevalencia de animales dentro de los mismos	36
<b>7.4.2.</b>	Identificación de factores de riesgo	36
<b>7.4.3.</b>	Estimación del impacto económico de la seroprevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar	36
<b>VIII.</b>	<b>RESULTADOS</b>	41
<b>8.1.</b>	Diagnóstico serológico de brucelosis bovina y distribución de su prevalencia en la provincia del Cañar	41
<b>8.1.1.</b>	Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar	41
<b>8.1.2.</b>	Prevalencia de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar	44
<b>8.1.3.</b>	Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en hatos de la provincia del Cañar	46
<b>8.2.</b>	Comparación de la seroprevalencia estimada con la previamente reportada por PNSA - MAG en el año 1979	48
<b>8.3.</b>	Factores de riesgos asociados a la seropositividad a brucelosis bovina en la provincia del Cañar	48
<b>8.4.</b>	Estimación del impacto económico de la brucelosis bovina en la ganadería de leche de la provincia del Cañar	49
<b>IX.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	51
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	53
<b>XI.</b>	<b>PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES</b>	54
<b>XII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	55
<b>XIII.</b>	<b>ANEXOS</b>	59



## LISTA DE TABLAS:

<b>Número:</b>	<b>Tabla:</b>	<b>Página:</b>
1	Tamaño de muestra estimado y el número de hatos a muestrear por cantón para alcanzar el número de animales incluidos en el estudio.	31
2	Número de animales y de hatos muestreados por cantón.	33
3	Ecuaciones empleadas en la estimación del impacto económico de la seroprevalencia de brucelosis bovina en la provincia del Cañar.	38
4	Valores de cada una de las variables y sus fuentes o referencias de donde fueron colectadas para su empleo en la estimación de las pérdidas económicas.	40
5	Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar.	43
6	Prevalencia de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina de la provincia del Cañar.	45
7	Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina de los hatos bovinos de la provincia del Cañar.	47
8	Comparación de la seroprevalencia de brucelosis bovina estimada en 1979 y la estimada con AgP, RB y ELISAc en este trabajo.	48
9	Factores de riesgos asociados a la seropositividad a brucelosis bovina en la provincia del Cañar.	49
10	Valores estimados de pérdidas económicas de acuerdo a la seroprevalencia a nivel de provincia evaluada mediante cada una de las pruebas diagnósticas.	50

**LISTA DE FIGURAS:**

<b>Número:</b>	<b>Figura:</b>	<b>Página:</b>
1	Vías de transmisión de <i>B. abortus</i> a los humanos.	18
2	Porcentajes de los animales que se incluyeron en la investigación de acuerdo a las diferentes razas de bovinos.	33

**LISTA DE ANEXOS:**

<b>Número:</b>	<b>Anexo:</b>	<b>Página:</b>
1	Fórmula para la estimación del tamaño de la muestra.	59
2	Formulario de Inspección y seguimiento a predios libres de brucelosis bovina.	60
3	Formulario de Orden de trabajo; para el envío de las muestras al laboratorio.	61
4	Georreferenciación de los hatos del estudio epidemiológico.	62

**LISTA DE FOTOGRAFÍAS:**

<b>Número:</b>	<b>Fotografía:</b>	<b>Página:</b>
1	Trabajo en campo, recolección de las muestras (vena coccígea o yugular), encuesta epidemiológica, marcaje de bovinos seropositivos a brucelosis bovina y sacrificio sanitario en los camales autorizados por AGROCALIDAD.	63
2	Trabajo en laboratorio, preparación e identificación de las muestras serológicas, antígeno de RB y reactivos de ELISAc.	63





### LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

<b>Abreviatura:</b>	<b>Significado:</b>
AgP	Aglutinación en Placa.
AGROCALIDAD	Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro.
EE	Error estándar
ELISAc	Enzyme-linked immunosorbent assay - Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.
ESPAC	Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua
LDR	Laboratorio de Diagnóstico Rápido.
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería.
MAGAP	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal.
OPS	Organización Panamericana de la Salud.
PNSA	Programa Nacional de Sanidad Animal.
RB	Prueba de Rosa de Bengala.
RIV	Prueba de precipitación con Rivanol.
r.p.m.	Revoluciones por minuto.
SESA	Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.
<b>Símbolo:</b>	<b>Significado:</b>
°C	Grado centígrado.



Yo, *Mainato Guamán Segundo Matías*, autor de la tesis “**SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS COMO IMPACTO EN LA REPRODUCCIÓN BOVINA DE LA PROVINCIA DEL CAÑAR**”, reconozco 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 Magister en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 06 de enero del 2017

*MAINATO GUAMÁN SEGUNDO MATIAS*

C.I: 0302113261



Yo, *Mainato Guamán Segundo Matías*, autor de la tesis “**SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS COMO IMPACTO EN LA REPRODUCCIÓN BOVINA DE LA PROVINCIA DEL CAÑAR**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 06 de enero del 2017

*MAINATO GUAMÁN SEGUNDO MATIAS*

C.I: 0302113261

**AGRADECIMIENTOS**



A la Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuaria – Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su servicio al desarrollo profesional. Al Dr. Antonio J. Vallecillo, Director de la presente investigación por su paciencia y tiempo brindado. A la Dirección Distrital y Articulación Territorial Agrocalidad Zona 6 – Área de Sanidad Animal. Al Laboratorio de Diagnóstico Rápido - Agrocalidad Azuay. Al Laboratorio de Diagnóstico Animal - Agrocalidad Tumbaco. A mis amigos y compañeros por su colaboración incondicional en la culminación de la presente investigación. Muchas gracias.

**Segundo Matías Mainato Guamán**



## DEDICATORIA

A Dios creador por darme la vida y su amor infinito.  
A mis Padres la razón de mi ser, por su apoyo incondicional en toda mi vida personal, que siempre han confiado en mí, gracias por todo el esfuerzo, siempre serán mi fortaleza para cumplir mis metas.  
A mis hermanos por su ejemplo de superación y motivación.

**Segundo Matías Mainato Guamán**



## I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad abortiva por excelencia de alta prevalencia que ocasiona grandes pérdidas económicas, limitando la producción y dificultando la comercialización de animales y productos de origen animal (Soria *et al.*, 2013). *Brucella abortus* tiene siete biovariedades reconocidas, de las cuales 1, 2, 3, 4 y 9 son las más reportadas, la biovariedad 1 destaca como la más frecuente en América Latina (Díaz, 2013). La Brucelosis en ganado bovino es causa de abortos, mortinatos y baja producción de leche, nacimiento de terneros débiles que pueden morir a días de su nacimiento, induce la presencia de retención placentaria y consecuente a esto puede ocurrir metritis y esto conlleva al incremento de días abiertos reproductivos de la vaca y estas causas producen pérdida de una lactancia. Después del primer aborto las gestaciones generalmente son normales, sin embargo, las vacas pueden eliminar la bacteria en la leche y en las descargas uterinas. En los toros se puede observar; epididimitis, vesiculitis seminal, orquitis o abscesos testiculares, produciendo definitivamente infertilidad de toros reproductores, baja tasa de crecimiento del hato ganadero (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). También es una enfermedad zoonótica de importancia en la salud pública, caracterizada en los humanos por fiebre continua, intermitente o irregular de duración variable, cefalalgia, debilidad, sudor profuso, escalofríos, artralgias, depresión y pérdida de peso. Las complicaciones osteoarticulares se observan en 20 a 60% de los casos; la manifestación articular más común es la sacroilitis. La recuperación es la regla, pero la incapacidad suele ser permanente. Sin tratamiento, la tasa de letalidad es de menos del 2%, es consecuencia de la endocarditis causada por infecciones por *B. melitensis* (OPS, 2001).

La brucelosis bovina es una enfermedad endémica en el Ecuador, con mucha importancia por su connotación en salud pública y por las restricciones que representa para el comercio nacional e internacional de mercancías agropecuarias (AGROCALIDAD, 2009).

En caso de la provincia del Cañar la ganadería bovina es netamente lechera, por el impacto reproductivo y económico que tiene la brucelosis bovina en la ganadería, se han realizado varios trabajos investigativos para determinar la prevalencia de esta enfermedad, pero estos estudios han sido dirigidos solamente a una parroquia o un cantón por lo cual no existe publicaciones o datos actuales de la prevalencia de brucelosis bovina en la totalidad de la provincia Cañar, lo cual corresponde al problema que pretende abordar el presente trabajo de investigación.

Según el estudio realizado por PNSA–MAG en el año 1979, la prevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar era de 1.05 a 2.95 % con un margen de error de 5 % (AGROCALIDAD, 2009).

Delgado & Vega (1985) en una investigación realizada sobre brucelosis bovina en el Camal Municipal de Cuenca por un lapso de 103 días solo en hembras con problemas reproductivos, provenientes de la provincia de Cañar de tres cantones Azogues, Biblián y el Cantón Cañar: determinaron que en el Cantón Cañar de 147 muestras el 6.12% resultaron sospechosas a la



Brucelosis, siendo el porcentaje más alto encontrado con relación al Cantón Azogues con 2.86% y el cantón Biblián con 3.19%.

Neira. (1997) en la investigación sobre la determinación de la incidencia de Brucelosis (*Brucella abortus*) por seroaglutinación y cultivo en cinco fincas ganaderas del Cantón Cañar registra incidencia en todas las fincas con 26.17% por seroaglutinación y por cultivo registrándose el 4.02%. La mayor incidencia de brucelosis a nivel de las cinco fincas lo presentan las vacas en producción seguido por las vacas secas, vaconas vientres, en menor proporción los reproductores.

Agurto & Fernández (2013) realizan un trabajo investigativo sobre la prevalencia de brucelosis bovina en la Parroquia Ingapirca, del cantón Cañar, mediante las pruebas serológicas de Rosa de Bengala y ELISA competitivo, bajo el estudio epidemiológico se consideraron 147 bovinos, como resultados se obtiene 3 casos seropositivos a brucelosis, lo cual equivale a 0.021 % de prevalencia a diferencia del 6 % obtenido en 1979 a nivel nacional y el 1% en el 2009.

En el país se han evaluado las pérdidas económicas por la presencia de la brucelosis bovina a nivel nacional, con el 6.0% de prevalencia y la cantidad de vacas existentes en Ecuador para el año 2000, se calculó una pérdida de \$ 1,183,385 Dólares, considerando un 21.0% por concepto de disminución en la producción de leche; 3.00%) por pérdidas de crías y \$ 469,850 (76%) por reposición de vientres, valores parciales que totalizaron una pérdida anual de \$ 5,436,908 (AGROCALIDAD, 2009).

Por lo antes descrito, se hace necesario realizar un estudio seroepidemiológico en la provincia del Cañar y estimar el impacto de la brucelosis en la ganadería bovina.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Aborto

La respuesta del embrión o feto está condicionada con la edad de la gestación, el tiempo de la infección y a la noxa actuante. La muerte embrionaria puede ocurrir a edad muy temprana durante la etapa gestacional desde el día de la fecundación hasta el día 45. La misma resulta de la licuefacción y eliminación del *conceptus*, esto se denomina comúnmente como reabsorción embrionaria. La pérdida fetal que ocurre desde los 45 días hasta los 265 días de gestación debe ser considerado como aborto, las que ocurren desde los 265 días hasta el final de la preñez se denominan parto prematuro (De Luca & Burnet, 2002).

Los casos esporádicos y los brotes epidémicos de abortos en vacas lecheras son un problema de creciente importancia que impacta significativamente en la productividad del rebaño al disminuir su viabilidad y desempeño productivo, al reducir el número potencial de vaquillas de reemplazo y la producción de leche, además de incrementar los costos asociados con la alimentación, tratamientos, inseminación y descarte prematuro de animales (Gädicke & Monti, 2008).

### 2.2. Enfermedades reproductivas en vacas lecheras

Uno de los aspectos limitantes de la eficiencia reproductiva de los predios está representado por la incidencia de enfermedades infecciosas de la reproducción. El impacto de las mismas va en detrimento de la limitada rentabilidad de la empresa ganadera. Más del 50% de las fallas reproductivas en bovinos son debidas a causas infecciosas existiendo, para algunas de ellas, mecanismos de prevención mediante vacunas y planes de manejo sanitario (Campero, 2000).

En nuestro país, Ecuador, no se lleva una estadística de las enfermedades que mayores problemas reproductivos se presentan en los hatos ganaderos, sean de leche o carne. Experiencias de muchos profesionales y reportes de laboratorios particulares y de Agrocalidad, las mayores afectaciones en el área reproductiva por enfermedades infecciosas, éstos declaran mayor presencia de IBR, DVB, Neosporosis y Brucelosis bovina, en ese orden, como las enfermedades que mayores problemas ocasionan a la ganadería nacional. No se han encontrado reportes o declaraciones sobre enfermedades de transmisión sexual como *Campylobacter* o *Trichomonas* en nuestro país, esto no quiere decir que no haya esta enfermedad, ya que signos de su presencia la han notado muchos veterinarios y su influencia es frecuente. (Sandoval, 2016)

### 2.3. Brucelosis bovina

La brucelosis enfermedad abortiva por excelencia de alta prevalencia en el país, que ocasiona grandes pérdidas económicas limitando la producción y dificultando la comercialización de animales y productos de origen animal, puede producir aborto en cualquier momento de la gestación, más común en el último tercio alcanzando hasta el 40%. La vaca que aborta elimina





billones de brucelas en su descarga genital, feto, envolturas fetales y placenta, siendo ésta la principal forma de diseminación de la enfermedad. Los bovinos se infectan por ingestión de pastos contaminados o por contacto con materiales infectantes, sin embargo es importante tener en cuenta que la brucelosis es una enfermedad controlable, y se puede erradicar cuando se dispone de un programa bien administrado (Soria *et al.*, 2013).

La brucelosis se mantiene como una de las principales zoonosis a nivel mundial y es una de las causas de fiebre de origen desconocido en humanos, con más de 500,000 nuevos casos anuales. Datos de la Organización mundial de sanidad animal (OIE) considera tradicionalmente a América del Sur como un área endémica para brucelosis humana. En la nueva distribución global de la enfermedad, según Pappas *et al.*, (2006), Sudamérica debería ser excluida de la zona de alta endemicidad, con excepción de países como Perú y Argentina, que reportan una incidencia de 34.9 y 8.4 casos por cada 100,000 habitantes, respectivamente (Tique *et al.*, 2009).

#### 2.4. Etiología

El agente causal principal de la brucelosis bovina es la *Brucella abortus* (*B. abortus*), en la mayor parte de especies de las otras especies domésticas se han registrado infecciones por esta bacteria, pero la infección se observa principalmente en bovinos, que pueden adquirirla a cualquier edad y sólo en los animales adultos persiste la infección (Escobar, 2011).

Las bacterias del género *Brucella* se observan al microscopio en forma de pequeños cocobacilos de 0.5 a 0.7  $\mu\text{m}$  de diámetro y de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$  de largo. Son bacterias Gram negativas, inmóviles, aerobias, intracelulares facultativas, no poseen cápsulas ni forman esporas, no fermentan los azúcares, su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos. Tienen un metabolismo oxidativo, basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones. Son catalasa y oxidasa positivos (Mathew *et al.*, 2015). No tiene vida libre, por tanto su hábitat son los animales y el hombre, estos patógenos tienen predilección por las vías y órganos reproductores y el sistema linfático (Poster *et al.*, 2013).

Poseen una membrana externa rica en fosfatidilcolina, el componente más abundante y mejor estudiado es el lipopolisacárido (LPS). En esta se distinguen tres regiones: el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana, un oligosacárido intermedio, llamado núcleo, y el polisacárido O (PSO), también conocido como cadena O. Dependiendo la presencia o ausencia de la cadena O del LPS se denominan cepas lisas (S-LPS por smooth) o cepas rugosas (R-LPS por rough) debido a su apariencia morfológica. Existen especies de *Brucellas* lisas: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*, y rugosas: *B. ovis* y *B. canis* (D'Pool *et al.*, 2004).

Actualmente se reconoce 10 especies para el género *Brucella*, las cuales se han diferenciado con base en sus características antigénicas y su hospedador animal preferencial: *B. melitensis* (ovejas, cabras), *B. abortus* (bovinos), *B. suis* (porcinos), *B. canis* (caninos), *B. ceti* (delfines, marsopas, ballenas), *B. microti* (zorros rojos, roedores de campo), *B. neotomae* (roedores), *B. ovis*



(ovejas), *B. pinnipedialis* (focas), y *B. inopinata* (aislada en el año 2009 de una infección en un implante mamario de una paciente de 71 años). Las tres primeras se han dividido a su vez en biovares: *B. abortus* (nueve biovares), *B. suis* (cuatro biovares) y *B. melitensis* (tres biovares) (Mosquera *et al.*, 2009).

En América Latina se han identificado la existencia de los biovares 1, 2, 3, 4, y 6 de *B. abortus*; sin embargo, el biovar 1 es el responsable de más del 80% de casos de brucelosis bovina reportados en la región (Mathew *et al.*, 2015).

## 2.5. Sinonimias

Blood y Radostits (1992), dan las siguientes denominaciones: Fiebre ondulante, Fiebre de Malta, Fiebre del Mediterráneo (en el hombre), Enfermedad de Bang, (en bovinos), Aborto contagioso, Aborto infeccioso, Aborto epizootico (en animales) (Blood & Radostits, 1992).

## 2.6. Distribución geográfica de la brucelosis bovina

Desde los años cincuenta del siglo pasado, la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, con ayuda de la cooperación técnica de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), han reconocido y abordado las zoonosis como un problema social, económico y sanitario. Se han emprendido programas para prevenir, controlar y erradicar enfermedades, como la Rabia, la Tuberculosis, la Brucelosis, entre otras. A pesar de estos esfuerzos en América del Sur existen cifras preocupantes de prevalencia de brucelosis bovina: Argentina, entre 10 y 14%; Venezuela, del 10.5%; Bolivia, 8.5%; Paraguay, 7.5%; Brasil, 4.7%; Colombia, 4.7%; Chile, entre 3 y 15%; Ecuador, 6% y, en Uruguay 0.5% (OPS, 2005; Soria *et al.*, 2013).

## 2.7. Caracterización epidemiológica de la brucelosis en el Ecuador

En base a los resultados obtenidos en los estudios realizados se ha regionalizado los mecanismos de control de acuerdo con los antecedentes epidemiológicos de la enfermedad en el Ecuador.

**Región 1 de Alta prevalencia:** Localizada en las provincias del norte de la sierra ecuatoriana, es decir la cuenca lechera nacional, integrada por: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, con una prevalencia del 1.97 al 10.62%.

**Región 2 de Alta prevalencia:** Conformada por las provincias del Litoral: Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, Los Ríos, El Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas, con una prevalencia entre 4.2% y 10.62%.

**Región 3 de Baja prevalencia:** Conformada por las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja, con una prevalencia de 1.3 al 2.6%.

**Región 4 de Baja prevalencia:** Existen varios estudios realizados en las provincias amazónicas, en la determinación de la prevalencia de brucelosis bovina. Espinoza. (2010) en la investigación



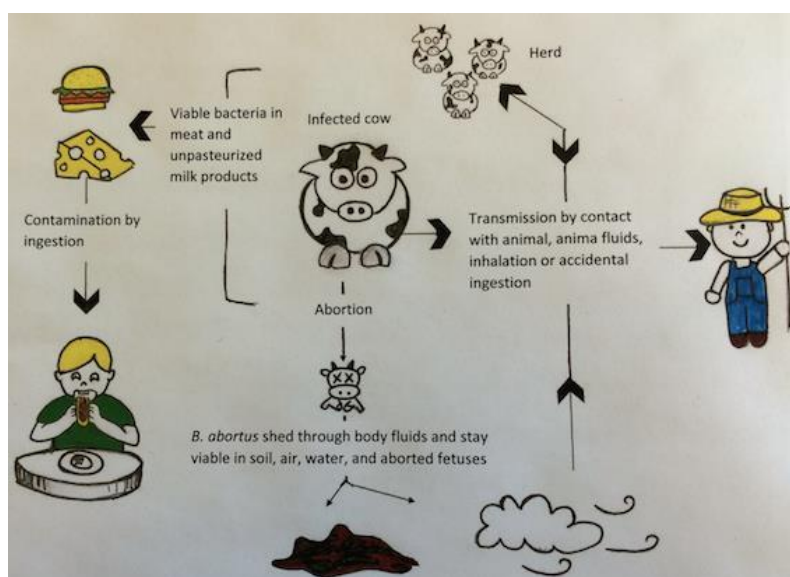
sobre la Prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Gualaquiza, Provincia de Morona Santiago se detectó una prevalencia de 2,22% concentrada en tres de las diez parroquias del cantón. Cabrera y Cárdenas. (2013) Prevalencia de brucelosis bovina en el Cantón Limón Indanza Provincia Morona Santiago, No se presentaron casos positivos por lo tanto se obtuvo una prevalencia del 0%.

**Región 5 Indemne:** En 1997 se realizó una encuesta serológica por muestreo en 114 propiedades de las islas Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana, resultando 507 muestras negativas a la prueba de Rosa de Bengala, con cuya base se considera a las Islas Galápagos como indemne a Brucelosis Bovina (AGROCALIDAD, 2009).

**2.8. Trasmisión de la brucelosis bovina**

La fuente primaria de la infección son los fetos, las envolturas fetales y las descargas vaginales, estos contienen un gran número de brucellas. La vía de infección más frecuente es el tracto gastrointestinal, por ingestión de pastos, forrajes y agua contaminados. La enfermedad se transmite por ingestión, inhalación, penetración a través de la conjuntiva, a través de la piel, vía genital o por contaminación de la ubre durante el ordeño, mediante la inseminación artificial con semen infectado, igualmente las vacas gestantes pueden transmitir la infección a su cría en el útero dando origen a la infección congénita. La transmisión horizontal suele ocurrir por contaminación directa y aunque las posibilidades de infección por moscas, perros, ratas, garrapatas, fómites, trajes y otros objetos inanimados contaminados no se descartan (Adamu *et al.*, 2016). El hombre se infectan, por el manejo de los animales enfermos y sus productos, al comer carne infectada, y beber de leche contaminada o consumir sus derivados (Ver **Figura 1**) (Escobar, 2011).

**Figura 1.** Vías de trasmisión de *B abortus* a los humanos.



Fuente: (Toma & Hadrava, 2015)



## **2.9. Patogenia**

*B abortus* tiene tropismo por útero grávido, glándula mamaria, testículos, glándulas sexuales masculinas accesorias, nódulos linfáticos, bolsas sinoviales, cápsulas articulares de animales sexualmente maduros; una vez que la brucella ingresa al organismo se multiplica en los nódulos linfáticos periféricos y de allí se disemina a través de la linfa y la sangre a los órganos de predilección del hospedero. En los terneros la multiplicación de la bacteria se da en los nódulos linfáticos, para después pasar a los órganos emuntorios (eliminadores) que los llevan al exterior, por eso en la mayoría de terneros la brucella es transitoria ya que no son sexualmente maduros, sin embargo, si pueden desarrollar brucelosis franca (síndrome de la lactancia de los terneros) (Neppas, 2013).

En una vaca adulta no gestante la brucella migra al útero, glándula mamaria y viseras, la infección no induce el desarrollo de algún signo clínico. Cuando la vaca queda gestante se infecta a través de las fases bacterémica que inicia en la glándula mamaria y en el útero por medio de sus paredes, la proliferación de las brucella se ve favorecida por el Eritritol, que es un carbohidrato que produce la placenta, y se encuentra en mayor concentración en los líquidos fetales y en el feto, lo que favorece la localización de la infección en estos tejidos. Una vez multiplicadas las brucellas producen endometritis erosiva grave de los espacios situados entre los cotiledones placentarios, luego invaden el alantocorion, contaminan al feto y los líquidos fetales, producen la destrucción de las vellosidades coriales que llevan a la muerte y expulsión del feto (Escobar, 2011).

## **2.10. Periodo de incubación**

El periodo de incubación es de 30 a 60 días; sin embargo, la infección en el ganado se caracteriza por adoptar una forma crónica, entre los factores que favorecen su presentación esta la edad, sexo, etapa de gestación, vía de infección, resistencia del hospedador, y la persistencia de la infección (Neppas, 2013).

## **2.11. Signos clínicos**

La brucelosis afecta a bovinos de todas las edades, pero persiste con mayor repetición en animales sexualmente adultos, la infección da lugar a aborto y retención de la placenta, que puede ocasionar infertilidad, en las vacas el signo principal de la enfermedad es frecuentemente el aborto al final del tercio medio de la gestación de 5 a 7 meses o en cualquier etapa de la gestación; sin embargo se han presentado casos en los que no hay aborto, sino solamente retención placentaria y endometritis, en el toro la brucelosis causa inflamación de los testículos con posterior atrofia (Neppas, 2013).



En los humanos la brucelosis se caracteriza por la presentación de fiebre ondulante, inflamaciones articulares, dolor de la cabeza, bronquitis, insomnio, orquitis, impotencia sexual, pérdida de peso, debilidad y afecciones del sistema nervioso central con meningitis y muerte (Pires *et al.*, 2016).

## 2.12. Diagnóstico

El diagnóstico se basa en el examen bacteriológico o serológico. *B. abortus* se puede recuperar de la placenta pero más convenientemente en cultivo puro del estómago y pulmones del feto abortado. La mayoría de las vacas cesa de excretar el microorganismo desde el tracto genital cuando la involución uterina se ha completado. Quedan focos de infección en el sistema retículo endotelial y la ubre, en estos casos el microorganismo se puede aislar a partir de la leche y secreciones de la ubre no lactante (Fraser & Clarence, 1993).

Actualmente, el esquema de diagnóstico de la brucelosis en países como México, se basa en pruebas serológicas que determinan la presencia de anticuerpos mediante pruebas de aglutinación (Norma Oficial Mexicana, 2003). Las más utilizadas en suero sanguíneo son: Prueba de tarjeta o Rosa de Bengala (RB), que detecta anticuerpos IgG1 e IgM contra cepas lisas de brucella; puede ser realizada como prueba tamiz en bovinos, caprinos y porcinos además de ser un procedimiento cualitativo y rápido. Prueba de precipitación con rivanol (RIV), detecta anticuerpos específicos IgM y otras macroglobulinas contra cepas lisas de brucella, su realización se sugiere para efectos de campaña, en sueros de bovinos que previamente resultaron positivos a la prueba de RB; por lo que se considera una prueba complementaria cuantitativa (Mejía & Lemus, 2012).

La Organización mundial de sanidad animal, OIE, como reguladora de los procesos de diagnóstico y control de brucelosis y otras enfermedades infecciosas aprueba seis exámenes indirectos para su diagnóstico oficial: la prueba de Aglutinación en placa con antígeno tamponado, Rosa de Bengala, Fluorescencia polarizada, ELISA indirecto, Fijación del complemento y ELISA competitivo. Las cuatro primeras son consideradas pruebas tamiz y las otras confirmatorias (Neppas, 2013)

Actualmente hay una amplia gama de pruebas diagnósticas para evidenciar anticuerpos específicos antibrucelares en suero, plasma sanguíneo, leche y en otros fluidos orgánicos como: plasma seminal y mucus vaginal, estas técnicas varían en sensibilidad y especificidad (Neppas, 2013).

## 2.13. Diagnóstico directo

### 2.13.1. Cultivo microbiológico

Las muestras más valiosas para el aislamiento de *B. abortus* incluyen fetos abortados (contenido estomacal, bazo y pulmón), membranas fetales, secreciones vaginales, leche, semen y tejido articular lesionado artritis o fluidos de higromas. A partir de los cadáveres de animales, los tejidos



preferidos para el cultivo son del sistema del retículoendotelial, glándula mamaria, nódulos linfáticos y el bazo (OIE, 2009). El cultivo bacteriológico es de elección; sin embargo, es laborioso, costoso y no puede realizarse de rutina, y por otro lado implica mucho riesgo para la persona que lo realizad.

### **2.13.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Esta prueba tiene una sensibilidad de 82%, permite la detección de secuencias específicas del ácido desoxirribonucleico (ADN) del agente causal del proceso infeccioso, detectando la presencia de la bacteria en el hospedero, y no la presencia o la ausencia de anticuerpos en suero de los animales sospechosos (Carlosoma, 2013).

## **2.14. Diagnóstico indirecto**

### **2.14.1. Técnica de aglutinación en placa (Huddleson) (PAT)**

Es una prueba sencilla descrita en 1928 por Huddleson, que aún se emplea como tamiz en algunos países de América Latina aunque está en desuso fuera del continente. Está sujeta a errores operacionales y puede presentar un fenómeno de zona en las diluciones más bajas de sueros con título alto, en los sueros contaminados o cuando se emplean antígenos no normatizados (Lucero et al., 2008)

### **2.14.2. Prueba de anillo en leche cruda (Ring test)**

Esta es una prueba recomendado por la OIE como prueba de tamizaje inicial para la brucelosis bovina, es de bajo costo para la inspección de hatos lecheros, se debe tomar la muestra de leche fresca del tanque recolector de leche de los predios o de los bidones, que no procedan de más de 25 vacas y de acuerdo con los resultados obtenidos, el predio se clasifica en sospechoso o negativo (AGROCALIDAD, 2009).

El principio de la prueba es que los anticuerpos antibrucelares contenidos en la muestra reaccionan con el antígeno coloreado (Hematoxilina) de brucellas formando con él un complejo antígeno anticuerpo que se adhieren a los glóbulos de la grasa de la leche y por su menor densidad asciende a la superficie, formando una capa de crema a manera de un anillo de color morado, que varía por su intensidad desde morado intenso positivo a blanco cremoso negativo (SENASA, 2009).

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

La prueba de RB es una de las más comúnmente usada para el diagnóstico de la brucelosis bovina, utiliza células completas de *B abortus* cepa 19 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. Se considera útil para el





tamizaje individual de animales, aunque pueden aparecer falsos positivos (Blood & Douglas, 2002).

#### **1.14.4. Prueba de fijación de complemento (FC)**

Es una prueba de gran sensibilidad (89%) y especificidad (83,5%), detecta cuantitativamente los anticuerpos producidos luego de la infección, pocas veces da reacciones no específicas y es útil para diferenciar los títulos de vacunación en las vacas de aquellos debidos a la infección. Los títulos estimados mediante FC no se desvanecen conforme la enfermedad se hace crónica y, a menudo esta prueba alcanza niveles diagnósticos más pronto que la prueba de Aglutinación de suero en tubo después de la infección natural. Además; recientes adelantos técnicos de laboratorio han permitido una mayor velocidad y eficiencia para hacer la FC y, se considera actualmente como la próxima prueba definitiva para descubrir la infección (Escobar, 2011).

#### **1.14.5. Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)**

Las múltiples comparaciones de técnicas inmunoenzimáticas realizadas con respecto a las convencionales han demostrado en su mayoría, que su aplicación agilizaría programas de control y erradicación de la infección y garantizaría el comercio internacional, sugiriendo la utilización del ELISA indirecto como prueba tamiz de elevada sensibilidad con respecto a RB y del ELISA competitivo con respecto a la Fijación del Complemento como prueba confirmatoria y diferencial del estatus de infección o vacilación de los animales reactores positivos en la prueba indirecta (Mejia & Lemus, 2012).

##### **1.14.5.1. ELISA indirecto (ELISAI)**

La prueba de ELISA-I es específica para detectar IgG de tipo 1, se puede utilizar para analizar muestras de suero o de leche. Esta prueba tiene una sensibilidad que oscila entre 93% y 97%, y la especificidad en 98% .

##### **1.14.5.2. ELISA competitivo (ELISAc)**

Esta prueba es de alta sensibilidad (97.7%) y especificidad (90.5%), es capaz de identificar y cuantificar anticuerpos de clase IgG1, aunque esos se encuentren en muy bajos niveles en el suero. En el caso de la brucelosis bovina se utiliza esta técnica para diferenciar anticuerpos vacunales de los producidos por la infección natural dado que utiliza el anticuerpo mono clonal M-84 específico para la cadena "O" del LPS (D'Pool *et al.*, 2004).

#### **2.14.6. Prueba de precipitación con Rivanol (RIV)**

Es un método cuantitativo y rápido, el Rivanol precipita las proteínas pesadas del suero, incluyendo la IgM. Se mezcla en cantidades iguales de suero y una solución al 1% de Rivanol da



lugar a un precipitado y un sobrenadante; este contendrá los anticuerpos IgG que serán aglutinantes con los antígenos en la prueba, reaccionando solo aquellos sueros con anticuerpos de infección. Su realización se sugiere para efectos de campaña, en sueros de bovinos que previamente resultaron positivos a la RB (Díaz *et al.*, 2000; Mejía & Lemus, 2012).

### 2.15. Tratamiento

No se aplica ningún tratamiento, debido a que *B. abortus* es una bacteria intracelular facultativa, lo que le confiere cierta protección ante la presencia de antibióticos dentro de hospedador y es económicamente inviable el tratamiento por el costo de los antibióticos (AGROCALIDAD, 2016).

### 2.16. Prevención

Para prevenir la brucelosis bovina existen vacunas que permiten una protección contra la infección, su aplicación disminuye los riesgos de infección, la presencia de abortos y la difusión de la enfermedad.

#### 2.16.1. Vacuna con cepa S19 de *B. abortus*

Esta vacuna, que ha servido de base en todos los programas de erradicación de la brucelosis bovina en varios países es un cultivo vivo de brucellas, cada dosis contiene entre  $10-60 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias (CFU), se presenta comercialmente en forma liofilizada.

Se trata de una vacuna que contiene microorganismos atenuados de morfología lisa, incapaces de crecer en presencia del Eritritol. Las características más sobresalientes de la cepa S19 de *B. abortus* son: baja virulencia, relativamente alta inmunogenicidad y buena antigenicidad (Muñoz, 2003).

Se recomienda aplicar en terneras de 3-6 meses de edad en dosis de 2 ml, vía subcutánea en la tabla del cuello (AGROCALIDAD, 2009; Reyes *et al.*, 2010). La efectividad en el ganado bovino depende de la edad de vacunación, dosis, vía de administración y la prevalencia de la brucelosis en el rebaño vacunado (Neppas, 2013).

Las ventajas que presenta el uso de este biológico es que requiere inoculación única en toda la vida del animal, alcanza una respuesta inmunitaria rápida y no presenta reacciones locales. Entre las desventajas, presenta una reacción aglutinogénica, una infección patogénica ocasional persistente y requiere para su conservación una cadena de frío rigurosa (AGROCALIDAD, 2009).

#### 2.16.2. Vacuna con cepa RB51 de *B. abortus*

Es una vacuna viva, atenuada, que requiere revacunación y cuya virulencia se encuentra más atenuado que la cepa S19. Se desarrolló a partir de la cepa lisa virulenta S-2308, para obtenerse la mutante RB51, que es una cepa rugosa estable de *B. abortus*, carente de la cadena lateral "O" del LPS. Se aplica vía subcutánea entre los 4 a 12 meses de edad con revacunaciones anuales y





tiene la ventaja que los animales resultan negativos a las pruebas serológicas de diagnóstico (AGROCALIDAD, 2009).

### **2.17. Medidas de control y erradicación de brucelosis bovina**

Para la prevención de brucelosis se debe conocer si el agente causal de la enfermedad existe en el lugar. En el caso de no existir se deben tomar todas las medidas de manejo para evitar su ingreso, entre las cuales se pueden mencionar las siguientes: al comprar animales, realizarlo de establecimientos que se hallen libres de la enfermedad con sanidad garantizada (certificación de predios libres); tener un área para la cuarentena de los animales que vayan a ingresar a la propiedad, realizar pruebas serológicas por lo menos cada 6 meses; eliminación de los animales reactivos positivos a la prueba; usar guantes para la manipulación de placentas y secreciones uterinas; lavarse y desinfectarse bien las manos cada vez que tenga contacto con animales sospechosos (Reaves & Pegram, 1987).

La vacunación, el diagnóstico, la eliminación de reactivos y la vigilancia epidemiológica, se debe poner en práctica en forma coordinada para el control y erradicación de la brucelosis. Si una de estas acciones falla o solo se cumple parcialmente, la enfermedad permanece como problemática constante o emergente.

Para que un programa de control y erradicación tenga éxito, todos los propietarios de bovinos deben poner en práctica lo siguiente:

- Realizar la vacunación en terneras nacidas en la propiedad, una sola vez a la edad de 3-6 meses, con vacuna cepa S19.
- Notificar la presencia de animales sospechosos y confirmados, (signos compatibles de la enfermedad o resultados positivos) a los técnicos de AGROCALIDAD, en cada una de las provincias a nivel nacional, para que realicen la atención sanitaria correspondiente.
- Realizar el sacrificio de animales reactivos a brucelosis bovina en mataderos autorizados para tal fin, con la finalidad de sanear el hato.
- En el caso de que los animales presenten abortos o retenciones placentarias, se deberá aislar a estos animales del resto y notificar inmediatamente a AGROCALIDAD, para que se puedan tomar las acciones sanitarias correspondientes.
- La producción láctea proveniente de animales seropositivos a brucelosis se deberá pasteurizar, no se deberá consumir leche, quesos o subproductos sin pasteurizar.
- No se permitirá el ingreso de animales de otros predios que no conozcan el *status* sanitario o de ferias de comercialización sin el respectivo certificado de vacunación y resultado negativo a brucelosis bovina.
- Para la monta se deberá utilizar toros reproductores negativos a la enfermedad. Se deberá conocer el origen de las pajuelas para inseminación y tomar las debidas medidas de bioseguridad (AGROCALIDAD, 2016).



### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*B. abortus* es causa de abortos, mortinatos y baja producción de leche, nacimiento de terneros débiles que pueden morir a días de su nacimiento, induce la presencia de retención placentaria y consecuente a esto puede ocurrir metritis y esto conlleva al incremento de días abiertos reproductivos de la vaca y estas causas producen pérdida de una lactancia. Después del primer aborto las gestaciones generalmente son normales, sin embargo, las vacas pueden eliminar la bacteria en la leche y en descargas uterinas. En los toros se puede observar; epididimitis, vesiculitis seminal, orquitis o abscesos testiculares, produciendo definitivamente infertilidad de toros reproductores, baja tasa de crecimiento del hato ganadero (Centers for Disease Control and Prevention, 2009).

La brucelosis bovina es una enfermedad endémica en el Ecuador, con mucha importancia por su connotación en salud pública y por las restricciones que representa para el comercio nacional e internacional de mercancías agropecuarias (AGROCALIDAD, 2009).

En caso de la provincia de Cañar la ganadería bovina es netamente lechera, por el impacto reproductivo y económico que tiene la brucelosis bovina en la ganadería, se han realizado varios trabajos investigativos para determinar la prevalencia de esta enfermedad, pero estos estudios han sido dirigidos solamente a una parroquia o cantón por lo cual no existe publicaciones o datos actuales de la prevalencia de brucelosis bovina en la totalidad de la provincia Cañar, lo cual corresponde al problema que pretende abordar este trabajo de investigación.



#### IV. JUSTIFICACIÓN

La brucelosis bovina tiene gran impacto directo en la reproducción bovina por lo cual es importante contar con una información actualizada de la prevalencia y de factores de riesgo de esta enfermedad en nuestras ganaderías y es un factor de riesgo en la salud pública por ser una enfermedad zoonótica.

Los problemas reproductivos en las vacas gestantes son las causantes de; pérdidas embrionarias, abortos, momificación fetal, nacimiento de crías débiles y también ocasionado infecciones del útero tales como piómetras, endometritis y pudiendo llegar a producir infertilidad permanente de la vaca, perdida de una lactancia, bajo crecimiento del hato ganadero y ocasionando grandes pérdidas económicas al pequeño ganadero.

La brucelosis bovina es una enfermedad de amplia distribución geográfica en la mayoría de los países del mundo. Sin embargo, la prevalencia más alta se registra en los países en vía de desarrollo. La infección tiene su origen en la población animal siendo el aborto una de las consecuencias de la enfermedad, el cual se produce a mitad de la gestación, aunque puede provocar el nacimiento de crías débiles, prematuras o de terneros muertos, así como orquitis e infecciones de las glándulas sexuales accesorias en machos (Pool *et al.*, 2004).

Según el estudio realizado por PNSA–MAG en el año 1979, la prevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar era de 1.05 a 2.95 % con un margen de error de 5 % (AGROCALIDAD, 2009).

Delgado & Vega (1985) en una investigación realizada sobre brucelosis bovina en el Camal Municipal de Cuenca por un lapso de 103 días solo en hembras con problemas reproductivos, provenientes de la provincia de Cañar de tres cantones Azogues, Biblián y el Cantón Cañar: determinaron que en el Cantón Cañar de 147 muestras el 6.12% resultaron sospechosas a la Brucelosis, siendo el porcentaje más alto encontrado con relación al Cantón Azogues con 2.86% y el cantón Biblián con 3.19%.

Neira. (1997) en la investigación sobre la determinación de la incidencia de Brucelosis (*Brucella abortus*) por seroaglutinación y cultivo en cinco fincas ganaderas del Cantón Cañar registra incidencia en todas las fincas con 26.17% por seroaglutinación y por cultivo registrándose el 4.02%. La mayor incidencia de brucelosis a nivel de las cinco fincas lo presentan las vacas en producción seguido por las vacas secas, vaconas vientres, en menor proporción los reproductores.

Agurto & Fernández (2013) realizan un trabajo investigativo sobre la prevalencia de brucelosis bovina en la Parroquia Ingapirca, del cantón Cañar, mediante las pruebas serológicas de Rosa de Bengala y ELISA competitivo, bajo el estudio epidemiológico se consideraron 147 bovinos, como resultados se obtiene 3 casos seropositivos a brucelosis, lo cual equivale a 0.021 % de prevalencia a diferencia del 6 % obtenido en 1979 a nivel nacional y el 1% en el 2009.



En el país se han evaluado las pérdidas económicas por la presencia de la brucelosis bovina a nivel nacional, con el 6.00% de prevalencia y la cantidad de vacas existentes en Ecuador para el año 2000, se calculó una pérdida de \$ 1,183,385 Dólares, considerando un 21.00% por concepto de disminución en la producción de leche; 3.00%) por pérdidas de crías y \$ 469,850 (76%) por reposición de vientres, valores parciales que totalizaron una pérdida anual de \$ 5,436,908 (AGROCALIDAD, 2009).

Por lo antes descrito, se hace necesario realizar un estudio seroepidemiológico en la provincia del Cañar y estimar el impacto de la brucelosis en la ganadería bovina.



## V. HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

En la provincia de Cañar la seroprevalencia en bovinos a *Brucella abortus* es mayor a las reportadas para todo el Ecuador, en el año 1979 por SESA MAG (2.9%) (AGROCALIDAD, 2009).

## VI. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia de *Brucella abortus*, mediante el diagnóstico de aglutinación (Rosa de Bengala) y ELISA competitiva y un estudio comparativo de datos reportados en la provincia de Cañar.

### 6.2. Objetivos específicos

- Especificar el número de animales que integrarán el tamaño de la muestra calculada, de acuerdo a la población bovina existente en cada cantón de la provincia de Cañar.
- Realizar la toma de muestras serológicas y determinación de la presencia de anticuerpos antibrucella, mediante las pruebas de; Rosa de Bengala y ELISA competitiva.
- Aplicar una encuesta al momento del muestreo para estimar el número de abortos existentes en el hato, reportados en los últimos dos años.
- Estimar el posible impacto económico con la seroprevalencia de brucelosis bovina identificado en la provincia Cañar.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Materiales y métodos empleados en la estimación del tamaño de muestras y la selección de los predios de muestreo

#### 7.1.1. Fuente de datos

Para la investigación de “Seroprevalencia de *Brucella abortus* como factor de impacto en la reproducción bovina de la provincia del Cañar”, se consideró la población bovina y los hatos existentes que se obtuvieron del reporte de vacunación contra la Fiebre Aftosa en la Fase II 2014, AGROCALIDAD CAÑAR, lo cual nos proporciona datos actualizados y verídicos.

La población (**N**) bovina estimada es de 140,242 bovinos en toda la provincia, de los cuales el 46% son bovinos hembras mayores a 2 años de edad. Según la base de datos existen 13,864 hatos en toda la provincia del Cañar.

La seroprevalencia (**Pesp**) de brucelosis bovina en toda la provincia del Cañar fue de 2.9 %, en 1979, según PNSA-MAG (actualmente AGROCALIDAD y MAGAP), se consideró esta prevalencia ya que refleja de toda la provincia y que no existe estudios actualizados (AGROCALIDAD, 2009).

La estimación del tamaño muestral se determinó según el método de las pruebas de diagnósticos no perfectas (sensibilidad y especificidad diagnósticas menores a 100%) (Thrusfield, 2007).

Datos de especificidad y sensibilidad diagnóstica de la prueba de aglutinación en placa con antígeno teñido con Rosa de Bengala fue la siguiente:

Sensibilidad de la prueba diagnóstica. **Sen** = 81.2 % (Gall & Nielsen, 2004).

Especificidad de la prueba diagnóstica. **Esp** = 86,3 % (Gall & Nielsen, 2004).

Para seleccionar en forma aleatoria los hatos que conformaron el estudio seroepidemiológico y la encuesta de manejo sanitario productivo, se consideró la base de datos de la Segunda fase 2014, y según el número de cada certificado de vacunación se aplicó la fórmula de Excel (Microsoft Office), versión 14.0 (= ALEATORIO.ENTRE(inferior;superior) para incluirlos en los hatos seleccionados.

#### 7.1.2. Valores considerados

Se procedió la estimación del tamaño de muestra para estudios de encuestas epidemiológicas con uso de pruebas diagnósticas no perfectas (Sensibilidad y especificidad diagnósticas menores al 100%) en poblaciones infinitas y el ajuste de tamaño de muestras estimado a poblaciones finitas (Cuando el tamaño de la muestra es igual o mayor al 5% de la población).

Nivel de confianza  $Z = 95\%$ . **Z (Valor del multiplicador)** = 1.960

Precisión absoluta de 5%. **d** = 0.05



Los valores fueron sustituidos en la formula siguiente (Ver **Anexo 1**):

$$n = \left( \frac{Z_{(\text{Valor del multiplicador})}}{d} \right)^2 X \frac{[(Sen X Pesp) + (1 - Esp)(1 - Pesp)][(1 - Sen X Pesp) - (1 - Esp)(1 - Pesp)]}{(Sen + Esp)^2}$$

El número ( $n$ ) obtenido de animales a muestrear fue ajustado a la  $N$  de bovinos del Cañar con la siguiente formula:

$$n_{ajus} = \frac{(N X n)}{(N + n)}$$

El  $n_{ajus}$  se consideró como el número de animales a muestrear en los diferentes hatos seleccionados.

### 7.1.3 Estimación del tamaño de muestra, aleatorización de los predios a muestrear y selección de animales incluidos en el estudio

El tamaño de muestra estimado de acuerdo a lo descrito en la sección de material y métodos fue de 445 animales, distribuidos en 44 hatos (Ver **Anexo 4**), al considerarse que en promedio se tienen 10 bovinos por hato. Este valor estimado de tamaño de muestra tiene un nivel de confianza del 95 % y un coeficiente de variación del 5 %. El número de animales a muestrear se ponderó al porcentaje de animales presentes en cada cantón respecto al de la población de bovinos de la provincia, como se describe en la **Tabla 1**. La selección de los hatos en donde se localizó a los animales incluidos en el estudio se aleatorizó con el uso de la generación de números aleatorios en una hoja de cálculo (Excell, Microsoft Office versión 14.0) y su identificación en el registro de predios de la campaña de vacunación contra la Fiebre Aftosa en la Fase II 2014, AGROCALIDAD CAÑAR.

**Tabla 1: Tamaño de muestra estimado y el número de hatos a muestrear por cantón para alcanzar el número de animales incluidos en el estudio.**

Cantones:	Número por cantón de:			Número de muestra por cantón de:	
	bovinos (%)*:	hatos:	bovinos por hato $\alpha$ :	bovinos:	hatos:
Azogues	35830 (26)	3300	11	114	10
Biblián	26468 (19)	2782	10	84	9
Cañar	63325 (45)	5723	11	201	18
Déleg	4334 (3)	389	11	14	1
El Tambo	6579 (5)	1220	5	21	4
La Troncal	1985 (1)	210	9	6	1
Suscal	1761 (1)	240	7	6	1
<b>Total</b>	<b>140282 (100)</b>	<b>13864</b>	<b>9</b>	<b>445</b>	<b>44</b>

\*% = Porcentaje de la población total de bovinos en la provincia del Cañar.

$\alpha$  Número promedio de bovinos en los hatos del cantón.

## **7.2. Materiales y métodos empleados en la colecta de muestras serológicas y datos en la encuesta aplicada a los responsables de los animales.**

### **7.2.1 Materiales de campo**

Overoles desechables, botas de caucho, soguillas de torniquete, nariguera, formularios de encuestas, registro de campo, esferos, tablero y equipo de GPS.

### **7.2.2 Materiales para la extracción de las muestras**

Tubos con vacío sin anticoagulante (Tapa roja), agujas de toma doble para sistema de colección de sangre al vacío 21G x1", campanas o adaptadores, jeringas estériles, guantes de Nitrilo, cubre bocas, termo coolers, geles refrigerantes, alcohol desinfectante y algodón.

### **7.2.3 Materiales de laboratorio**

Centrífuga, pipetas 0.5 ml, tubos eppendorf, gradillas, marcador permanente, guantes de Nitrilo, cubre bocas.

### **7.2.4 Reactivos para el procesamiento de muestras serológicas y determinación de anticuerpos anti-*B. abortus***

Brucella Rose Bengal Antigen( JOVAC – RBS0116).

Brucella Rose Bengal Antigen( PRIONCS – RBA0313).

Brucella C – ELISA prueba para anticuerpos (SVANOVA).





### **7.3. Proceso de recolección de muestra serológica y aplicación de la encuesta sanitaria Reproductiva en el campo**

#### **7.3.1 Proceso de colecta de muestras serológicas**

Sujeción correcta del bovino, con nariguera, soguillas en el campo, a nivel de fincas tecnificadas en collarines para evitar lesiones o accidentes de trabajo.

Antisepsia focal con alcohol Etílico al 70% en la zona a realizar la punción ya sea de la vena yugular o coccígea.

Localización de la vena, punción y extracción de la sangre venosa, una cantidad de 5 a 8 ml.

Se realiza una presión con una torunda de algodón sin alcohol para evitar el sangrado y flebitis (Ver **Fotografía 1**).

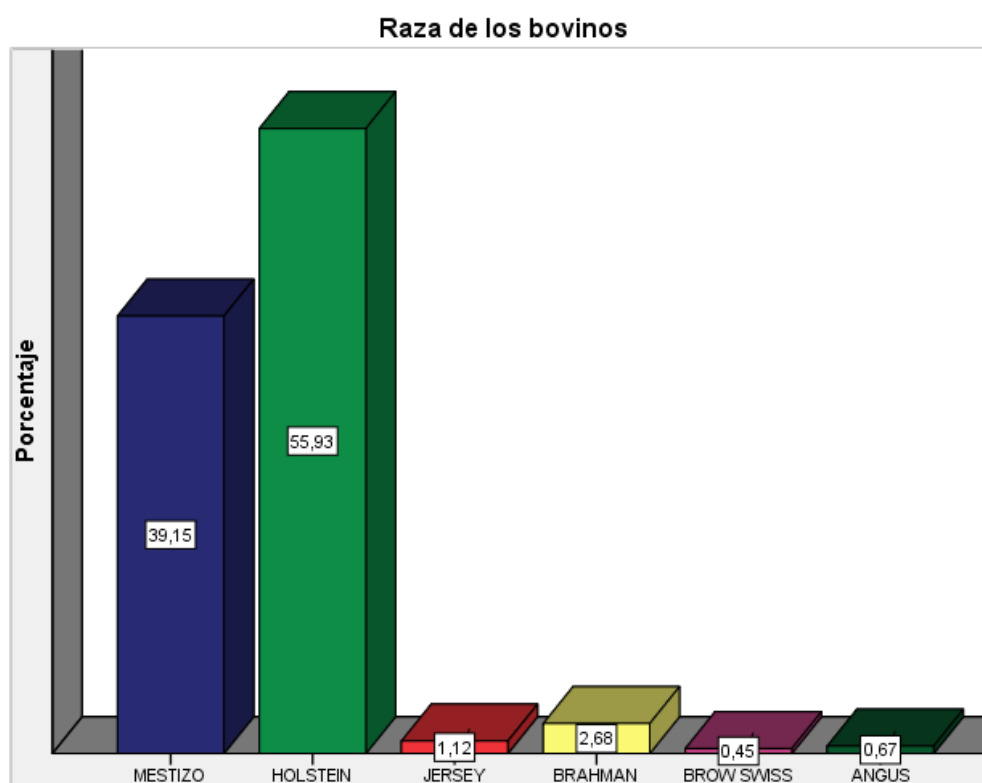
Identificación de las muestras: número de arte (identificación del bovino) o nombre del bovino, sexo, edad en meses, síntomas del animal al momento de la toma de muestra.

Refrigeración de las muestras en termo coolers para su transporte desde el ható hasta el Laboratorio de Dirección Distrital AGROCALIDAD Zona 6.

#### **7.3.2 Clasificación etaria y la raza de bovinos considerados en el muestreo serológico.**

En este estudio seroepidemiológico se muestreo a 447 bovinos mayores a 2 años de edad; de las cuales el 93.74% (419/447) correspondió a vacas en etapa reproductiva y lactancia, y el restante 6.26% (28/447) a sementales de cada ható. La mayoría de bovinos corresponden a raza lechera y mestiza; el 55,9% (250/447) Holstein, el 39,15% (175/447) mestizos o criollos y en menor proporción bovinos de las razas de carne tales como; el 2,68% de raza Brahman y 0,67% de raza Angus, del sector costanero de los cantones de La Troncal y Cañar, se puede afirmar en su mayor proporción ganado de leche, especialmente de la raza Holstein (Ver **Figura 2**).

**Figura 2.** Porcentajes de los animales que se incluyeron en la investigación de acuerdo a las diferentes razas de bovinos.



Los 447 animales pertenecían a 44 hatos, en los cuales se aplicó la encuesta sobre el manejo sanitario y reproductivo (Ver **Tabla 2**).

**Tabla 2: Número de animales y de hatos muestreados por cantón.**

Cantón:	Muestra estimada:		Muestreo realizado:			
	Animales (n)*:	Hatos (n):	Hembras (n):	Machos (n):	Total animales (n):	Predios (n):
<b>Azogues</b>	114	10	100	4	104	9
<b>Biblian</b>	84	9	91	3	94	9
<b>Cañar</b>	201	18	179	17	196	19
<b>Déleg</b>	14	1	10	1	11	1
<b>El Tambo</b>	21	4	25	2	27	4
<b>La Troncal</b>	6	1	7	0	7	1
<b>Suscal</b>	6	1	7	1	8	1
<b>Total</b>	<b>445</b>	<b>44</b>	<b>419</b>	<b>28</b>	<b>447</b>	<b>44</b>

\*n = Número.



### 7.3.3 Aplicación de la encuesta sanitaria reproductiva en el campo

Encuesta del manejo sanitario productivo, mediante el formulario de Inspección y seguimiento a predios libres de brucelosis bovina (Ver **Anexo 2**). Se recolectó la siguiente información de cada hato: identificación y localización del predio, información general del predio, manejo general de los animales y potreros, aspectos sanitarios; vacunaciones, sistema de reproducción, patologías reproductivas presentadas y pruebas diagnósticas realizadas en el hato para brucelosis bovina.

### 7.3.4 Procesamiento de las muestras en los laboratorios

La preparación de las muestras serológicas se efectuó en la Dirección Distrital AGROCALIDAD Zona 6 – Azogues, y consistió en la centrifugación de las muestras por 10 minutos a 3,500 r.p.m. Identificación de los tubos Eppendorf con el número de arete o el nombre del bovino muestreado (Ver **Fotografía 2**).

Obtención del suero sanguíneo mediante una micropipeta automática y colocación de 1.5 ml en los tubos Eppendorf.

Refrigeración de las muestras serológicas hasta la entrega al Laboratorio de Diagnóstico Rápido (LDR) - Azuay de AGROCALIDAD (Ver **Fotografía 2**).

Ingreso de la información del hato en el Formulario del orden de trabajo para el envío de las muestras serológicas a los laboratorios de AGROCALIDAD, el formulario consta de la siguiente información; datos del remitente, nombre del propietario, ubicación, preservación de las muestras, tipo de muestras enviadas, especie muestreadas, identificación de las muestreas (**Ver Anexo 3**)

#### 7.3.4.1. Laboratorio de LDR – AZUAY de AGROCALIDAD

Se realizó el diagnóstico rápido de Aglutinación en Placa (AgP) y los casos positivos a esta prueba se enviaron al laboratorio de Sanidad Animal -Tumbaco.

Protocolo empleado: PEE/SE/05 Diagnóstico de Brucelosis mediante la Prueba Rosa de Bengala - Rev. 2

#### 7.3.4.2. Laboratorio de Sanidad Animal AGROCALIDAD – Tumbaco.

Se realizaron las pruebas de RB (Brucella Rose Bengal Antigen, PRIONCS – RBA0313) y ELISAc (Brucella C – ELISA prueba para anticuerpos, SVANOVA).

Los protocolos de Diagnóstico para el procesamiento de las muestras serológicas, son de estricto confidencial de los laboratorios de Diagnostico de Sanidad Animal - Agrocalidad

1. PEE/SE/05 Diagnóstico de Brucelosis mediante la Prueba Rosa de Bengala - Rev. 2
2. PEE/SE/06 Diagnóstico de Brucelosis Bovina mediante la Prueba ELISA Competitivo - Rev. 2

Luego de la emisión de los resultados de los laboratorios de AGROCALIDAD, se entregó a los ganaderos.

En caso de hatos negativos a las tres pruebas diagnósticas: AgP, RB y ELISAc, se socializó los riesgos que tiene la brucelosis bovina, su importancia en la salud pública como enfermedad



zoonótica y la forma correcta de prevenir esta enfermedad mediante la implementación de medidas sanitarias en el hato como las vacunaciones y buen manejo reproductivo del hato.

### **7.3.5. Procedimientos realizados en casos de animales positivos a brucelosis bovina.**

En caso bovinos seropositivos al diagnóstico serológico ELISAc, AGROCALIDAD como autoridad Sanitaria del país en base a la Ley de Sanidad Animal y según las directrices de la Resolución N° 131 del MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL CONTROL DE BRUCELOSIS BOVINA, se realizó las siguientes medidas sanitarias en el hato:

1. Entrega de los resultados de los laboratorios de AGROCALIDAD a los propietarios de los bovinos muestreados y se recomienda aislar los animales positivos, higiene en el ordeño, no consumir leche cruda y quesos frescos, implementar medidas de bioseguridad en el manejo de animales, eliminación correcta de restos de tejidos abortados y desinfectantes que se pueden utilizar, y se socializa los riesgos sanitarios que produce en la salud pública por ser una enfermedad zoonótica.
2. Interdicción del predio, mediante el inicio de cuarentena, el propietario se compromete a implementar todas las medidas sanitarias emitidas por AGROCALIDAD, se prohíbe el ingreso y salida de los animales, en caso de incumplimiento se inició el proceso administrativo correspondiente.
3. Marcaje de los bovinos seropositivos a la prueba de ELISA competitivo, se realizó por parte de los técnicos de AGROCALIDAD la marcación a fuego consistió en la aplicación sobre la piel del animal de un hierro caliente, con la letra "B", en el músculo masetero derecho o izquierdo. Este marcaje se lo realizó obligatoriamente a todos los animales con resultados positivos a brucelosis bovina (**Ver Fotografía 1**).
4. Se procedió a realizar el sacrificio sanitario de los animales positivos, en los mataderos autorizados: Matadero Municipal de Azogues, Cañar y Matadero de EMURPLAC de Cuenca, el personal del camal utilizó todas las medidas de bioseguridad y se decomisó los órganos reproductivos y nódulos linfáticos (**Ver Fotografía 1**).
5. Se implementó las medidas de bioseguridad, aislamiento de los animales seropositivos, prohibición de movilización de animales hacia otros hatos o ferias de comercialización, hasta su eliminación.
6. Una vez realizado el sacrificio de los animales positivos se levantó la interdicción del predio, mediante la respectiva acta de fin de cuarentena y el cierre del evento sanitario.
7. Se implementó un calendario de vacunación para esta enfermedad, con la aplicación de vacuna RB51 a todos los bovinos dentro de la categoría a vacunar (hembras a partir de los 4 meses) (AGROCALIDAD, 2016).



#### **7.4. Análisis de los datos obtenidos**

Con los datos obtenidos mediante el muestreo serológico y la aplicación de las tres pruebas diagnósticas a las muestras colectadas, se determinó el número de bovinos seropositivos a brucelosis bovina y la prevalencia de brucelosis bovina con respecto a la población de bovinos de la provincia del Cañar. También se obtuvo el número de hatos en el que se encontró a por lo menos un animal seropositivo a alguna de las tres pruebas serológicas empleadas. Los datos obtenidos tienen un intervalo de confianza de 95% y una variación del  $\pm 5\%$ .

Con la encuesta realizado a los propietarios de los animales de los hatos muestreados, se estimó el riesgo que representan para la presencia de animales seropositivos a brucelosis bovina.

Finalmente, con algunos parámetros tomados de la bibliografía, datos colectados de fuentes de información local, y los de seroprevalencia generados en este proyecto se estimó el impacto económico de la enfermedad, por bovino, por vaca y vacona mayor a 18 meses, y finalmente por vaca infectada.

##### **7.4.1 Estimación de la prevalencia de animales seropositivos a brucelosis bovina, la prevalencia de hatos con animales seropositivos y la prevalencia de animales dentro de los mismos.**

La estimación de la prevalencia de animales seropositivos a por lo menos una de las tres pruebas serológicas a nivel de cantón, parroquia y la provincia del Cañar, se consideró el número total de bovinos incluidos en el muestreo y el origen de los mismos, y el número animales seropositivos a cada una de las tres pruebas.

Para determinar la prevalencia de hatos con animales seropositivos a por lo menos una de las tres pruebas serológicas a nivel de cantón, parroquia y la provincia del Cañar, se identificó por hato la presencia de por lo menos un animal seropositivo y su localización, con el número de hatos con animales seropositivos se estimó el porcentaje que representan del número total de hatos muestreados.

Para obtener la prevalencia de animales seropositivos dentro de cada hato de la provincia del Cañar, se cuantificó el número de animales seropositivos a cada una de las tres pruebas diagnósticas y se estimó el porcentaje que representan del número total de animales muestreados en el hato. Se consideró adicionalmente la localización de los hatos por parroquia y cantón.

##### **7.4.2. Identificación de factores de riesgo**

Mediante la encuesta epidemiológica, se obtuvo información para determinar los factores de riesgo asociados a la seropositividad a brucelosis bovina con la prueba de RB:

- 1). Tipo de vacuna que administran en los hatos (Cepa S19/RB51), la mayoría de hatos no vacunan para esta enfermedad.
- 2). Sistema de reproducción empleada: monta natural, inseminación artificial o mixta.



- 3). Lugar de pariciones ya sea en el potrero, corral o parideras.
- 4). Si ha observado la presentación de abortos entre 6 a 8 meses de gestación.
- 5). Destino del material abortado: lo deja en el mismo lugar donde se sucedió el aborto o lo entierra.
- 6). Si existen o no retenciones placentarias.
- 7) Si concurren o no nacimientos de terneros débiles.
- 8) Si existe metritis post-parto.
- 9) Si se tienen esterilidad permanente en macho o hembras.

Para lo colecta de la información arriba descrita se empleó el formulario de Inspección y seguimiento a predios libres de brucelosis bovina (Ver **Anexo 2**).

Para el análisis de los factores de riesgo de seropositividad a brucelosis bovina se consideró la relación que tubo cada una de las variables con los casos positivos al diagnóstico serológico de RB.

#### **7.4.3. Estimación del impacto económico de la seroprevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar**

En esta estimación se consideró que todo animal seropositivo a cada una de las pruebas diagnósticas empleadas es un animal infectado por *B. abortus*.

Adicionalmente, para estimar el impacto económico que tiene la presencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar, se empleó lo descrito por Santos *et al.* (2013) y Angara *et al.* (2016), con algunas modificaciones en las fórmulas que se resumen la **Tabla 3**.

Los valores de algunos parámetros se tomaron de lo publicado por Bernués *et al.* (1997), Santos *et al.* (2013) y Angara *et al.* (2016), se muestran en la **Tabla 4**. Valores económicos y de parámetros productivos se obtuvieron de estadísticos de fuentes oficiales como MAGAP y AGROCALIDAD, también descritos en la **Tabla 4**.

Finalmente, en la misma **Tabla 4** se incluyen los datos seroepidemiológicos obtenidos en el presente trabajo.

Todas las formulas se ingresaron en una hoja de cálculo (LibreOffice versión 5.2), y se ingresaron los valores correspondientes a cada uno de los parámetros. Los valores de impacto económico se estimaron de acuerdo al porcentaje de seroprevalencia con cada una de las tres pruebas diagnósticas, por bovino de la provincia del Cañar, por vaca y vacona mayor a 18 meses, y por vaca infectada (seropositiva).



**Tabla 3: Ecuaciones empleadas en la estimación del impacto económico de la seroprevalencia de brucelosis bovina en la provincia del Cañar.**

<b>Estimación:</b>	<b>No:</b>	<b>Ecuación:</b>	<b>Descripción:</b>
Pérdida económica total.	<b>Eq. 1</b>	$PET = PeAb + PeMp + PeInt + PeRVc + PeRSm + PeMVSerp + PeSVe + PeRPlc$	<b>PET</b> es Pérdida económica total. <b>PeAb</b> es Perdida económica por aborto. <b>PeMp</b> es Pérdida económica por muerte perinatal. <b>PeInt</b> es Pérdida económica por infertilidad temporal. <b>PeRVc</b> es Pérdida económica por remplazo de vacas. <b>PeRSm</b> es Pérdida económica por remplazo de sementales. <b>PeMVSerp</b> Pérdida económica por mortalidad de vacas infectadas. <b>PeSVe</b> es Pérdida económica por servicios veterinarios. <b>PeRPlc</b> es Pérdida económica por reducción en la producción de leche en vacas infectadas.
Pérdida económica por abortos.	<b>Eq. 2</b>	$PeAb = nSerp \times \%Ab \times \$Ter$	<b>PeAb</b> es Perdida económica por aborto. <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas. <b>%Ab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan <b>\$Ter</b> es Valor promedio de terneros al destete.
Pérdida económica por muerte perinatal.	<b>Eq. 3</b>	$PeMp = nSerp \times \%Mp \times \$Ter$	<b>PeMp</b> es Perdida económica por muerte perinatal. <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas. <b>%Mp</b> es Porcentaje de muerte perinatal en terneros de vacas infectadas. <b>\$Ter</b> es Valor promedio de terneros al destete.
Pérdida económica por infertilidad temporal.	<b>Eq. 4</b>	$PeInt = nSerp \times \%IAr \times \$IAr$	<b>PeInt</b> es Pérdida económica por infertilidad temporal. <b>%IAr</b> es Porcentaje de hatos que emplean inseminación artificial y monta natural junto con inseminación artificial. <b>\$IAr</b> es Costo promedio de la inseminación artificial por vaca
Pérdida económica por remplazo de vacas.	<b>Eq. 5</b>	$PeRVc = (nSerp \times \%Ab) \times \%Est \times \$Vc$	<b>PeRVc</b> es Pérdida económica por remplazo de vacas. <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas. <b>%Ab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan. <b>%Est</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan y desarrollan esterilidad. <b>\$Vc</b> es Valor promedio de vaca.
Pérdida económica por remplazo de sementales.	<b>Eq. 6</b>	$PeRSm = (nSerp \times \%HMn) \times 1/25 \times \$Sm$	<b>PeRSm</b> es Pérdida económica por remplazo de sementales. <b>%HMn</b> es Porcentaje de hatos que emplean monta natural e inseminación artificial junto con monta natural. <b>1/25</b> es Proporción de un semental por vacas. <b>\$Sm</b> es Valor promedio de semental.
Pérdida económica por mortalidad de vacas infectadas.	<b>Eq. 7</b>	$PeMSerp = (nSerp \times \%Ab) \times \%Mab \times \$Vc$	<b>PeMSerp</b> es Pérdida económica por mortalidad de vacas infectadas. <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas. <b>%Ab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan.



<p>Pérdida económica por servicios veterinarios.</p>	<p><b>Eq. 8</b> <math>PeSve = (nSerp \times \%Ab) \times \\$Sve</math></p>	<p><b>%Mab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que mueren a consecuencia del aborto.  <b>\$Vc</b> es Valor promedio de vaca.  <b>PeSve</b> es Pérdida económica por servicios veterinarios.  <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas.  <b>%Ab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan  <b>\$Sve</b> es Costo promedio de servicios veterinarios y fármacos para el tratamiento de metritis.</p>
<p>Pérdida económica por reducción en la producción de leche en vacas infectadas.</p>	<p><b>Eq. 9</b> <math>PeRple = \{[(nSerp \times \%Ab) \times pPle] \times \%RpleAb + [(nSerp \times \%NAb) \times pPle] \times \%RpleNAb\} \times \\$Lle</math></p>	<p><b>PeRple</b> es Pérdida económica por reducción en la producción de leche en vacas infectadas.  <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas.  <b>%Ab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que si abortan  <b>%RpleAb</b> es Porcentaje de reducción en la producción de leche en vacas infectadas que si abortan.  <b>pPle</b> es Producción de leche por lactancia por vaca (Producción promedio por día X Periodo promedio de lactación en días).  <b>%Nab</b> es Porcentaje de vacas infectadas que no abortan.  <b>%RpleNAb</b> es Porcentaje de reducción en la producción de leche en vacas infectadas que no abortan.  <b>\$Lle</b> es Valor de litro de leche.</p>
<p>Pérdida económica por bovino.</p>	<p><b>Eq. 10</b> <math>PepB = PET/nTb</math></p>	<p><b>PepB</b> es Pérdida económica por bovino.  <b>PET</b> es Pérdida económica total.  <b>nTb</b> es Número total de bovinos de la provincia del Cañar.</p>
<p>Pérdida económica por vaca.</p>	<p><b>Eq. 11</b> <math>PepV = PET/nVc</math></p>	<p><b>PepB</b> es Pérdida económica por vaca.  <b>PET</b> es Pérdida económica total.  <b>nVc</b> es Número total de vacas de la provincia del Cañar.</p>
<p>Pérdida económica por vaca infectada.</p>	<p><b>Eq. 12</b> <math>PeVs = PET/nSerp</math></p>	<p><b>PeVs</b> es Pérdida económica por vaca infectada.  <b>PET</b> es Pérdida económica total  <b>nSerp</b> es Número de vacas infectadas de la provincia del Cañar.</p>



**Tabla 4: Valores de cada una de las variables y sus fuentes o referencias de donde fueron colectadas para su empleo en la estimación de las pérdidas económicas.**

<b>Variable:</b>	<b>Valor:</b>	<b>Fuente o referencia:</b>
Número total de bovinos.	140,242 animales	Agrocalidad.
Número total de vacas (> 2 años).	65,079 vacas	Agrocalidad.
Número total de vaconas (> 1 año - < 2 años).	22,894 vaconas	Agrocalidad.
Porcentaje de hatos que emplean inseminación artificial.	20.45%	Agrocalidad.
Porcentaje de hatos que emplean monta natural.	59.10%	Agrocalidad.
Porcentaje de hatos que emplean inseminación artificial junto con monta natural (Mixto).	20.45%	Agrocalidad.
Producción promedio diaria de leche por vaca.	5.22 litros	ESPAC, 2015
Duración promedio de lactancia en días.	326.9 días	Chilpe y Chuma, 2015.
Seroprevalencia AgP.	29.30 %	Este estudio.
Seroprevalencia RB.	4.25 %	Este estudio.
Seroprevalencia ELISAc.	4.03 %	Este estudio.
Valor promedio de terneros al destete.	\$ 100.00 Dolares (\$ 20.00 – 180.00)	Magap, Datos de campo.
Valor promedio de vaca.	\$ 1,800.00 Dolares (\$ 1,200.00 - 2,400.00)	Magap, Datos de campo.
Valor promedio de semental.	\$ 2,000.00 Dolares (\$ 1,500.00 - 2,500.00)	Magap, Datos de campo.
Valor de litro de leche.	\$ 0.42 Dolares	Magap
Costo promedio de servicios de inseminación artificial, incluye semen y demás materiales.	\$ 60.00 Dolares	Magap
Costo promedio de servicios veterinarios y fármacos para el tratamiento de metritis.	\$ 80.00	Magap
Tasa o porcentaje de abortos en vacas infectadas.	15%	Bernués <i>et al.</i> , 1997; Santos <i>et al.</i> , 2013
Tasa o porcentaje de muerte neonatal en terneros de vacas infectadas.	10%	Bernués <i>et al.</i> , 1997; Santos <i>et al.</i> , 2013
Tasa o porcentaje de esterilidad en vacas infectadas que abortan.	20%	Bernués <i>et al.</i> , 1997
Tasa o porcentaje de mortalidad de vacas infectadas que abortan.	1%	Bernués <i>et al.</i> , 1997; Angara <i>et al.</i> , 2016
Tasa o porcentaje de reducción en la producción de leche en vacas infectadas que no abortan.	10%	Angara <i>et al.</i> , 2016
Tasa o porcentaje de reducción en la producción de leche en vacas infectadas que si abortan.	20%	Angara <i>et al.</i> , 2016

## VIII. RESULTADOS

### 8.1. Diagnóstico serológico de brucelosis bovina y distribución de su prevalencia en la provincia del Cañar

La presencia de animales con anticuerpos anti-*B. abortus* en la provincia del Cañar, se determinó mediante el diagnóstico serológico con tres pruebas, AgP, RB y ELISAc. La prevalencia de animales seropositivos a cada una de las tres pruebas empleadas se estimó a nivel de provincia, cantón y parroquia, y dentro de cada uno de los hatos muestreados. También se consideró la prevalencia de hatos con animales seropositivos a nivel de provincia, cantón y parroquia. Prevalencias estimadas con un intervalo de confianza de 95% y una variación del  $\pm 5\%$ .

#### 8.1.1 Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar

##### 8.1.1.1 Diagnóstico serológico con la prueba de AgP.

En la provincia del Cañar la seroprevalencia con esta prueba fue del  $29.30 \pm 1.46\%$  (131/447). Dentro de la provincia en el cantón Déleg se identificó la mayor prevalencia, un  $90.91 \pm 4.54\%$  (10/11) de los bovinos fueron positivos con la prueba de AgP, seguido del El Tambo con un  $48.15 \pm 2.40\%$  (13/27) y el Cañar con  $37.86 \pm 1.89\%$  (78/196). Para el caso del cantón Suscal, todos los animales muestreados fueron negativos ( $0.0 \pm 0.0\%$  (0/8)). La parroquia con más alta seroprevalencia a brucelosis bovina fue Déleg con un  $90.91 \pm 4.54\%$  (10/11), seguida de Ventura con un  $72.73 \pm 3.64\%$  (8/11) y San Antonio de Paguancay con  $68.18 \pm 3.41\%$  (15/22). En las parroquias de Suscal, Aurelio Bayas y Chorocopte no se identificaron animales seropositivos (Ver **Tabla 5**).

##### 8.1.1.2 Diagnóstico serológico con la prueba de RB.

A nivel de provincia con esta prueba, la prevalencia fue de un  $4.25 \pm 0.21\%$  (19/447). En el cantón Biblián se encontró la mayor seroprevalencia, con un  $6.38 \pm 0.32\%$  (6/94) bovinos positivos a RB, seguido de Cañar con un  $4.37 \pm 0.22\%$  (9/196), Azogues y el Tambo con  $2.88 \pm 0.14\%$  (3/104) y  $3.70 \pm 0.18\%$  (1/27), respectivamente. En los cantones Suscal, Déleg y la Troncal no se encontraron animales positivos a esta prueba. A nivel de las parroquias, la más alta prevalencia de animales seropositivos fueron en Ingapirca y Pindilig con un  $13.04 \pm 0.65\%$  cada una, seguida de Biblián con un  $8.22 \pm 0.41\%$  de (6/94). En el resto de parroquias no se encontraron animales positivos a la prueba de RB (Ver **Tabla 5**).

##### 8.1.1.3 Diagnóstico serológico con la prueba de ELISAc.

Con esta prueba a nivel de provincia se estimó una prevalencia del  $4.03 \pm 0.20\%$  (18/447). En el cantón de Déleg se encontró un  $9.09 \pm 0.45\%$  (1/11) de bovinos positivos, la mayor prevalencia, seguido de Biblián con un  $5.25 \pm 0.21\%$  de (4/94), Azogues con un  $4.84 \pm 0.24\%$  (5/114) y Cañar con un  $3.88 \pm 0.19\%$  de (8/196.), en el resto de los cantones no se identificaron animales



seropositivos. La parroquia con más alta seroprevalencia fue Déleg con un  $9,09 \pm 0.45\%$  (1/11), seguido de Pindilig con el  $13.04 \pm 0.65\%$  (3/23) e Ingapirca con el  $11.59 \pm 0.58\%$  (8/59), en el resto de la parroquias no se identificaron animales seropositivos (Ver **Tabla 5**).

Los detalles de la distribución de la prevalencia de bovinos seropositivos identificados con las distintas pruebas diagnósticas en la provincia del Cañar se describen en la **Tabla 5**.

**Tabla 5: Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar.** Distribución de la prevalencia  $\pm 5\%$  de bovinos seropositivos a brucelosis bovina identificados mediante las pruebas de Aglutinación en placa (AgP), Aglutinación con antígeno teñido con Rosa de Bengala (RB) y ELISA competitivo (ELISAc) en parroquias y cantones de la provincia del Cañar incluidos en el estudio.

Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar:							
por cantón:				por parroquia:			
Cantón (n)*	AgP n (% $\pm$ 5%)	RB n (% $\pm$ 5%)	ELISAc n (% $\pm$ 5%)	Parroquia (n)	AgP n (% $\pm$ 5%)	RB n (% $\pm$ EE)	ELISAc n (% $\pm$ 5%)
<b>Azogues (104)</b>	19 (18.27 $\pm$ 0.91)	3 (2.88 $\pm$ 0.14)	5 (4.81 $\pm$ 0.24)	<b>A. Bayas (37)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Guapán (20)</b>	9 (45.00 $\pm$ 2.25)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (5.00 $\pm$ 0.25)
				<b>Luis Cordero (12)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Pindilig (23)</b>	8 (34.78 $\pm$ 1.74)	3 (13.04 $\pm$ 0.65)	3 (13.04 $\pm$ 0.65)
				<b>Taday (12)</b>	2 (16.67 $\pm$ 0.83)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (8.33 $\pm$ 0.42)
<b>Biblian (94)</b>	8 (8.51 $\pm$ 0.42)	6 (6.38 $\pm$ 0.32)	4 (5.25 $\pm$ 0.21)	<b>Biblian (73)</b>	8 (10.96 $\pm$ 0.55)	6 (8.22 $\pm$ 0.41)	4 (5.48 $\pm$ 0.27)
				<b>Jerusalén (21)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Cañar (196)</b>	78 (37.86 $\pm$ 1.89)	9 (4.37 $\pm$ 0.22)	8 (3.88 $\pm$ 0.19)	<b>Cañar (11)</b>	2 (18.18 $\pm$ 0.91)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Chorocopte (17)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>General Morales (10)</b>	2 (20.00 $\pm$ 1.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Gualleturo (24)</b>	10 (41.67 $\pm$ 2.08)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Honorato Vásquez (23)</b>	3 (13.04 $\pm$ 0.65)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Ingapirca (59)</b>	33 (47.83 $\pm$ 2.39)	9 (13.04 $\pm$ 0.65)	8 (11.59 $\pm$ 0.58)
				<b>San Antonio Paguancay (22)</b>	15 (68.18 $\pm$ 3.41)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Ventura (11)</b>	8 (72.73 $\pm$ 3.64)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Zhud (19)</b>	5 (26.31 $\pm$ 1.31)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Déleg (11)</b>	10 (90.91 $\pm$ 4.54)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (9.09 $\pm$ 0.45)
<b>El Tambo (27)</b>	13 (48.15 $\pm$ 2.40)	1 (3.70 $\pm$ 0.18)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>El Tambo (27)</b>	13 (48.15 $\pm$ 2.40)	1 (3.70 $\pm$ 0.18)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>La Troncal (7)</b>	3 (42.85 $\pm$ 2.14)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>Pancho Negro (7)</b>	3 (42.85 $\pm$ 2.14)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Suscal (8)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>Suscal (8)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Total de cantones (447)</b>	<b>131 (29.30 <math>\pm</math> 1.46)</b>	<b>19 (4.25 <math>\pm</math> 0.21)</b>	<b>18 (4.03 <math>\pm</math> 0.20)</b>	<b>Total de parroquias (447)</b>	<b>131 (29.30 <math>\pm</math> 1.46)</b>	<b>19 (4.25 <math>\pm</math> 0.21)</b>	<b>18 (4.03 <math>\pm</math> 0.20)</b>

\*n = Número.

## 8.1.2 Prevalencia de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina en la provincia del Cañar

### 8.1.2.1 Diagnóstico serológico con la prueba de AgP.

En la provincia la prevalencia de los hatos con al menos un bovino seropositivo fue de  $56.81\% \pm 2.84$  (25/44). Para el caso de los cantones de Déleg y La Troncal en el  $100 \pm 5.00\%$  (1/1) de sus hatos muestreados tienen animales positivos a esta prueba, seguidos de Cañar con un  $78.95 \pm 3.95\%$  (15/19). Para el caso de las parroquias de Pindilig, Cañar, General Morales, San Antonio de Paguancay, Gualleturo, Ventura, Zhud, Déleg y Pancho Negro, en el  $100 \pm 5.00\%$  sus hatos se encontraron bovinos positivos a esta prueba diagnóstica (Ver **Tabla 6**).

### 8.1.2.2 Diagnóstico serológico con la prueba de RB.

Con la prueba de RB en la provincia se encontró que  $13.63 \pm 0.68\%$  (6/44) de los hatos tienen animales seropositivos. A nivel de los cantones; en El Tambo se identificó la mayor prevalencia de hatos con animales seropositivos, con un  $25.00 \pm 2.50\%$  (1/4), seguido de Biblián con  $22.22 \pm 1.11\%$  (2/9), y para el caso de los cantones Suscal, Déleg y la Troncal no se identificaron hatos con animales con anticuerpos anti-*B. abortus*. La parroquia con más altas prevalencia de hatos fue Pindilig con  $50.00 \pm 2.50\%$  (1/2), seguida de Ingapirca con  $33.33 \pm 1,67\%$  (2/6) (Ver **Tabla 6**).

### 8.1.2.3 Diagnóstico serológico con la prueba de ELISAc.

Para la provincia con este ensayo la prevalencia de hatos con bovinos seropositivos se estimó un  $15.90 \pm 0.79\%$  (7/44). Para el caso de los cantones; Déleg la prevalencia fue del  $100.00\%$  (1/1), seguido de Azogues con un  $33.33 \pm 1.66\%$  (3/9), Biblián con  $11.11 \pm 0.55\%$  (1/9), y para Suscal, El Tambo y la Troncal no se identificaron hatos con animales seropositivos. Para las parroquias de Déleg y Taday, un  $100.00\%$  (1/1) de sus hatos se identificaron animales seropositivos, Guapán y Pindilig con un  $50.00 \pm 2.50\%$  (1/2) y Cañar con  $33.33 \pm 1,67\%$  (2/6), en el resto de las parroquias no se encontraron hatos con animales con anticuerpos anti-*B. abortus* (Ver **Tabla 6**).

**Tabla 6: Prevalencia de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina de la provincia del Cañar.** Distribución de la prevalencia  $\pm 5\%$  de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina identificados mediante las pruebas de Aglutinación en placa (AgP), Aglutinación con antígeno teñido con Rosa de Bengala (RB) y ELISA competitivo (ELISAc) en parroquias y cantones de la provincia del Cañar incluidos en el estudio.

Prevalencia de hatos con bovinos seropositivos a brucelosis bovina de la provincia del Cañar							
por cantón:				por parroquia:			
Cantón (n)*	AgP n (% $\pm 5$ %)	RB n (% $\pm 5$ %)	ELISAc n (% $\pm 5$ %)	Parroquia (n)	AgP n (% $\pm 5$ %)	RB n (% $\pm 5$ %)	ELISAc n (% $\pm 5$ %)
<b>Azogues (9)</b>	4 (44.44 $\pm$ 2.22)	1 (11.11 $\pm$ 0.55)	2 (22.22 $\pm$ 1.11)	<b>A. Bayas (3)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Guapán (2)</b>	1 (50.00 $\pm$ 2.50)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (50.00 $\pm$ 2.50)
				<b>Luis Cordero (1)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Pindilig (2)</b>	2 (100.00 $\pm$ 5.00)	1 (50.00 $\pm$ 2.50)	1 (50.00 $\pm$ 2.50)
				<b>Taday (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (100.00 $\pm$ 5.00)
<b>Biblian (9)</b>	2 (22.22 $\pm$ 1.11)	2 (22.22 $\pm$ 1.11)	1 (11.11 $\pm$ 0.55)	<b>Biblian (7)</b>	2 (28.57 $\pm$ 1.43)	2 (28.57 $\pm$ 1.43)	1 (14.28 $\pm$ 0.71)
				<b>Jerusalén (2)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Cañar (19)</b>	15 (78.95 $\pm$ 3.95)	2 (10.53 $\pm$ 0.53)	2 (10.53 $\pm$ 0.53)	<b>Cañar (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Chorocopte (2)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>General Morales (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Gualleturo (2)</b>	2 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Honorato Vásquez (2)</b>	1 (50.00 $\pm$ 2.50)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Ingapirca (6)</b>	5 (83.33 $\pm$ 4.17)	2 (33.33 $\pm$ 1.67)	2 (33.33 $\pm$ 1.67)
				<b>San Antonio Paguancay (2)</b>	2 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Ventura (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Zhud (2)</b>	2 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
				<b>Déleg (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (100.00 $\pm$ 5.00)
<b>El Tambo (4)</b>	2 (50.00 $\pm$ 2.50)	1 (25.00 $\pm$ 1.25)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>El Tambo (4)</b>	2 (50.00 $\pm$ 2.50)	1 (25.00 $\pm$ 1.25)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>La Troncal (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>Pancho Negro (1)</b>	1 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (100.00 $\pm$ 5.00)
<b>Suscal (1)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	<b>Suscal (1)</b>	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Total de cantones (44)</b>	<b>25 (56.81 <math>\pm</math> 2.84)</b>	<b>6 (13.63 <math>\pm</math> 0.68)</b>	<b>7 (15.90 <math>\pm</math> 0.79)</b>	<b>Total de parroquias (44)</b>	<b>25 (56.81 <math>\pm</math> 2.84)</b>	<b>6 (13.63 <math>\pm</math> 0.68)</b>	<b>n8 (15.90 <math>\pm</math> 0.79)</b>

\*n = Número.

### **8.1.3 Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina en hatos de la provincia del Cañar**

#### **8.1.3.1 Diagnóstico serológico con la prueba de AgP.**

Con esta prueba se encontraron hatos en las parroquias San Antonio de Paguancay (1 hato de 2) y El Tambo (2 hatos de 4) con el 100.00% de los animales muestreados seropositivos a brucelosis bovina. Seguidas de la parroquia Ingapirca, donde se identificó un hato con  $91.67 \pm 4.58\%$  (11/12) de animales seropositivos, y Déleg con el  $90.91 \pm 4.54\%$  (10/11) (Ver **Tabla 7**).

#### **8.1.3.2 Diagnóstico serológico con la prueba RB.**

En la parroquia Ingapirca se identificó un hato con  $63.64 \pm 3.18\%$  (7/11) de sus animales seropositivos a esta prueba diagnóstica, en Biblian un hato con el  $50.00 \pm 2.50\%$  (5/10) y en Pindilig un hato con el  $25.00 \pm 1.25\%$  (3/12) (Ver **Tabla 7**).

#### **8.1.3.3 Diagnóstico serológico con la prueba de ELISAc.**

Esta prueba en la parroquia de Ingapirca mostró la existencia de un hato con el  $54.54 \pm 2.73\%$  (6/11) seropositivos, en Biblian un hato con el  $40.00 \pm 2.00\%$  (4/10), y en Pindilig un hato con el  $25.00 \pm 1.25\%$  (3/12) de sus animales con presencia de anticuerpos anti-*B. abortus* (Ver **Tabla 7**).

**Tabla 7: Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina de los hatos bovinos de la provincia del Cañar.** Distribución de la prevalencia  $\pm 5\%$  de bovinos seropositivos a brucelosis bovina identificados mediante las pruebas de Aglutinación en placa (AgP), Aglutinación con antígeno teñido con Rosa de Bengala (RB) y ELISA competitivo (ELISAc) en hatos de bovinos de las parroquias de la provincia del Cañar incluidos en el estudio.

Prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina por hato de las parroquias de la provincia del Cañar:					
Parroquia n de hatos (n de animales)*	Hato		AgP n (% $\pm 5$ %)	RB n (% $\pm 5$ %)	ELISAc n (% $\pm 5$ %)
	Número	n de hato (n de animales)			
<b>A. Bayas</b> 3 (37)	1	1 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	2	2 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	3	3 (15)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Guapán</b> 2 (20)	4	1 (11)	9 (81.82 $\pm$ 4.09)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (9.09 $\pm$ 0.45)
	5	2 (9)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Luis Cordero</b> 1 (12)	6	1 (12)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Pindilig</b> 2 (23)	7	1 (11)	4 (36.36 $\pm$ 1.82)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	8	2 (12)	4 (33.33 $\pm$ 1.67)	3 (25.00 $\pm$ 1.25)	3 (25.00 $\pm$ 1.25)
<b>Taday</b> 1 (12)	9	1 (12)	2 (16.67 $\pm$ 0.83)	0 (0 $\pm$ 0)	1 (8.33 $\pm$ 0.42)
<b>Biblian</b> 7 (73)	10	1 (11)	3 (27.27 $\pm$ 1.36)	1 (9.09 $\pm$ 0.45)	0 (0 $\pm$ 0)
	11	2 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	12	3 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	13	4 (10)	5 (50.00 $\pm$ 2.50)	5 (50.00 $\pm$ 2.50)	4 (40.00 $\pm$ 2.00)
	14	5 (8)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	15	6 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	16	7 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Jerusalén</b> 2 (21)	17	1 (10)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	18	2 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Cañar</b> 1 (11)	19	1 (11)	2 (18.18 $\pm$ 0.91)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Chorocopte</b> 2 (17)	20	1 (11)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	21	2 (6)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>General Morales</b> 1 (10)	22	1 (10)	2 (20.00 $\pm$ 1.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Gualleturo</b> 2 (24)	23	1 (12)	3 (25.00 $\pm$ 1.25)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	24	2 (12)	7 (58.33 $\pm$ 2.92)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Honorato Vásquez</b> 2 (23)	25	1 (11)	3 (27.27 $\pm$ 1.36)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	26	2 (12)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>Ingapirca</b> 6 (69)	27	1 (12)	11 (91.67 $\pm$ 4.58)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	28	2 (11)	3 (27.27 $\pm$ 1.36)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	29	3 (11)	8 (72.73 $\pm$ 3.64)	7 (63.64 $\pm$ 3.18)	6 (54.54 $\pm$ 2.73)
	30	4 (11)	5 (45.45 $\pm$ 2.27)	2 (18.18 $\pm$ 0.91)	2 (18.18 $\pm$ 0.91)
	31	5 (7)	6 (85.71 $\pm$ 4.28)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	32	6 (7)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
<b>San Antonio</b> <b>Paguancay</b> 2 (22)	33	1 (11)	11 (100.00 $\pm$ 5.00)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)
	34	2 (11)	4 (36.36 $\pm$ 1.82)	0 (0 $\pm$ 0)	0 (0 $\pm$ 0)





<b>Ventura</b> 1 (11)	35	1 (11)	8 (72.73 ± 3.64)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
<b>Zhud</b> 2 (19)	36	1 (11)	3 (27.27 ± 1.36)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
	37	2 (8)	2 (25.00 ± 1.25)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
<b>Déleg</b> 1 (11)	38	1 (11)	10 (90.91 ± 4.54)	0 (0 ± 0)	1 (9.09 ± 0.45)
<b>El Tambo</b> 4 (27)	39	1 (6)	6 (100.00 ± 5.00)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
	40	2 (3)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
	41	3 (7)	7 (100.00 ± 5.00)	1 (14.28 ± 0.71)	0 (0 ± 0)
	42	4 (11)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
<b>Pancho Negro</b> 1 (7)	33	1 (7)	3 (42.86 ± 2.14)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
<b>Suscal</b> 1 (8)	44	1 (8)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)	0 (0 ± 0)
<b>Totales parroquias</b> 44 (447)	44	44 (447)	131 (29.30 ± 1.46)	19 (4.25 ± 0.21)	18 (4.03 ± 0.20)

\*n = Número.

## 8.2. Comparación de la seroprevalencia estimada con la previamente reportada por PNSA - MAG en el año 1979

Mediante el presente estudio se determina que la prevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar, a los tres métodos de diagnósticos son las siguientes; ELISAc 4,03%, Rosa de Bengala de 4,25% y con el método de Aglutinación en Placa de 29.30%. Se demuestra que la prevalencia de Brucelosis Bovina es mayor a lo reportado en el año de 1979, donde fue 1.05 – 2.95%, según el estudio realizado por PNSA – MAG en toda la provincia (ver **Tabla 8**).

**Tabla 8: Comparación de la seroprevalencia de brucelosis bovina estimada en 1979 y la estimada con AgP, RB y ELISAc en este trabajo.**

Seroprevalencia 1979*:		Seroprevalencia 2016 $\bar{x}$ :	
AgP	2.9 %	AgP	29.30 ± 1.46 %
		RB	4.25 ± 0.21 %
		ELISAc	4.03 ± 0.20 %

\* SESA 1979.

$\bar{x}$  ± 5 %.

## 8.3. Factores de riesgos asociados a la seropositividad a brucelosis bovina en la provincia del Cañar.

Los datos colectados de la encuesta epidemiológica se empleó el análisis de regresión logística multivariada para cada una de las variables como factores de riesgo asociados a la seropositividad a brucelosis bovina.

Los animales pertenecientes a los hatos donde se presentaron problemas de metritis postparto y animales con esterilidad permanente tienen un mayor riesgo de ser seropositivos a la prueba diagnóstica de RB (13.78 y 5.19 Odds ratio, con un valor de  $p = 0 < a 0.05$ ) (Ver **Tabla 9**).

**Tabla 9: Factores de riesgos asociados a la seropositividad a brucelosis bovina identificada mediante la prueba de RB en bovinos de la provincia del Cañar.**

Variable:	Categorías:	Bovinos:		Odds ratio		Valor p:
		Muestreados:	Seropositivos (%):	Valor:	I.C. (95%):	
Vacunación	No	379	17 (4.49 ± 0.22)			
	Cepa S19	45	0 (0.00 ± 0.00)	1,27	0.45 – 3.56	0.64
	Cepa RB51	23	2 (3.70 ± 0.43)	0.31	0.07 – 1.31	0.11
Sistema de reproducción	Monta natural	251	9 (3.59 ± 0.18)			
	Inseminación artificial	96	8 (8.33 ± 0.42)	1.09	0.38 – 3.14	0,862
	Mixta	100	2 (2.00 ± 0.10)	-----	-----	-----
Lugar de pariciones	Potrero	361	16 (4.56 ± 0.23)			
	Corral	62	1 (1.61 ± 0.08)	1.87	0.54 – 6.45	0.31
	Paridera	34	2 (5.88 ± 0.29)	-----	-----	-----
Abortos (6-8 meses de gestación)	Si	50	8 (16.00 ± 0.80)			
	No	397	11 (2.77 ± 0.14)	1.99	1.26 - 3.15	0.003
Destino del material abortado	Deja en el lugar	301	16 (5.32 ± 0.27)			
	Elimina en la basura	83	0 (0.00 ± 0.00)	0.34	0.06 – 2.09	0.24
	Entierra	63	3 (4.76 ± 0.24)	-----	-----	-----
Retenciones placentarias	Si	21	2 (9.52 ± 0.48)			
	No	426	17 (4.86 ± 0.24)	0.34	0.07-1.62	0.174
Nacimientos de terneros débiles	Si	118	3 (2.54 ± 0.13)			
	No	329	16 (4.86 ± 0.24)	1.61	9.25–10.29	0.61
Metritis postparto	Si	13	4 (30.77 ± 0.17)			
	No	434	15 (3.46 ± 0.17)	13.78	3.51-54.07	< 0.000
Esterilidad en machos y hembras	Si	14	2 (14.29 ± 0.71)			
	No	433	17 (3.93 ± 0.20)	5.19	1.00-26.90	0.050

#### 8.4. Estimación del impacto económico de la brucelosis bovina en la ganadería de leche en la provincia del Cañar.

Con el supuesto de que todos los animales seropositivos identificados con las tres diferentes pruebas diagnósticas aplicadas en el presente trabajo, datos de fuentes institucionales como MAGAP y AGROCALIDAD, parámetros previamente reportados o empleados en las publicaciones, se estimó el impacto económico de los diferentes valores de seroprevalencia de brucelosis bovina en la producción vacuna de la provincia del Cañar.

Con un estimado de  $29.30 \pm 1.46\%$  de animales seropositivos en la provincia mediante la prueba de AgP, se está dejando de ganar \$ 42.35 dólares al año por animal; perdidas por problemas abortivos, muerte perinatal e infertilidad, \$ 77.62 dólares al año por vaca y vacona mayor a 18

meses con problemas de infertilidad y reemplazo de vacas, y por cada hembra infectada (seropositiva) \$ 264.90 dólares al año.

De la misma manera, se está dejando de ganar \$ 6.14 dólares al año por animal, \$ 11.26 dólares al año por vaca y vacona mayor a 18 meses, y por cada hembra infectada (seropositiva) \$ 264.90 dólares al año cuando se considera una seroprevalencia del  $4.25 \pm 0.21\%$ , la cual fue estimada con la prueba de RB.

Y finalmente, con la prueba de ELISAc, se evidencia una seroprevalencia similar a la identificada con RB, se estima una pérdida anual por bovino en la provincia del Cañar de \$ 5.83 dólares, \$ 10.68 dólares al año por vaca y vacona mayor a 18 meses, y por cada hembra infectada (seropositiva) \$ 264.90 dólares en el mismo periodo de tiempo.

Como se muestra en la **Tabla 10**, en la provincia del Cañar las pérdidas totales estimadas por año ascienden a \$ 5,939,618.82 dólares al año si se considera la seroprevalencia estimada con la prueba de AgP, \$ 861,548.81 dólares y \$ 816,950.98 dólares con las pruebas de RB y ELISAc, respectivamente.

**Tabla 10: Valores estimados de pérdidas económicas de acuerdo a la seroprevalencia a nivel de provincia evaluada mediante cada una de las pruebas diagnósticas.**

	Prueba diagnóstica:		
	AgP ( $29.30 \pm 1.46\%$ )*	RB ( $4.25 \pm 0.21\%$ )	ELISAc ( $4.03 \pm 0.20\%$ )
<b>Pérdida económica total</b>	\$ 5,939,618.82	\$ 861,548.81	\$ 816,950.98
<b>Pérdida económica por bovino</b>	\$ 42.35	\$ 6.14	\$ 5.83
<b>Pérdida económica por vaca</b>	\$ 77.62	\$ 11.26	\$ 10.68
<b>Pérdida económica por vaca infectada (seropositiva)</b>	\$ 264.90	\$ 264.90	\$ 264.90

\* $\pm 5\%$ .



## IX. DISCUSIÓN

Se demuestra que la prevalencia de Brucelosis Bovina en el presente estudio realizado con los tres métodos de diagnóstico; ELISAc 4,03%, RB 4,25% y AgP de 29,30% es mayor a lo reportado en el año de 1979, donde fue 1.05 – 2.95%, según el estudio realizado por PNSA – MAG en toda la provincia.

Estudios previos en el cantón Cañar realizados sobre la determinación de la incidencia de brucelosis (*B. abortus*) por seroaglutinación y cultivo en cinco fincas ganaderas, se registró una prevalencia en todas las fincas del 26.17% por seroaglutinación (Neira, 1997), mediante la presente investigación la prevalencia de brucelosis bovina a la prueba de AgP es 36.86%, con un incremento de 12.69%.

Con otra investigación realizada en la Parroquia Ingapirca, del cantón Cañar, sobre la prevalencia de brucelosis bovina, mediante las pruebas serológicas de RB y ELISAc, como resultados se obtuvo 3 casos seropositivos a brucelosis, lo cual equivale a 0.021% (Agurto *et al.*, 2013), en este estudio se incrementó a 11.59%, siendo la parroquia Ingapirca con más casos positivos a brucelosis bovina, un factor importante que es una zona ganadera de alta producción láctea.

Por otra parte Moreno (1999) en su investigación sobre detección de anticuerpos contra *B. abortus* en bovinos, analizó la incidencia de brucelosis en seis zonas ganaderas más importantes de la provincia de Chimborazo, con la técnica de RB la incidencia fue de 9.98%, es mayor con respecto al presente estudio que es de 4,25% al diagnóstico de RB.

Los animales pertenecientes a los hatos donde se presentaron problemas de metritis postparto y animales con esterilidad permanente tienen un mayor riesgo de ser seropositivos a la prueba diagnóstica de RB (13.78 y 5.19 Odds ratio, con un valor de  $p = 0 < a 0.05$ ). Según (Berthe *et al.*, 2007), en una investigación epidemiológica de seroprevalencia de brucelosis bovina demuestra que el historial de abortos previos y los mortinatos presentan una asociación positiva con la seropositividad de brucelosis bovina. Otro estudio realizado en la provincia de Manabí, sobre los factores de riesgo de brucelosis bovina (Zambrano *et al.*, 2016), determinó que hay mayor probabilidad de que se presenten abortos en los hatos afectados por brucelosis que en los no afectados ( $p < 0.02$ ). Es posible que en nuestro estudio los animales que desarrollan metritis postparto, y en el caso de las hembras con una esterilidad permanente sean posteriores a un aborto. Otros estudios realizados por Espinoza. (2010), en la Provincia de Morona Santiago en el cantón Gualaquiza, en la investigación sobre la Prevalencia de brucelosis bovina, se detectó una prevalencia de 2,22% concentrada en tres de las diez parroquias del cantón. También Cabrera y Cárdenas. (2013), en el Cantón Limón Indanza, No se presentaron casos positivos a brucelosis bovina por lo tanto se obtuvo una prevalencia del 0%.



Con la prevalencia del 6% y la población de vacas existentes en Ecuador en el año 2000, se calculó una pérdida de \$ 1,183,385.00 de dólares por concepto de disminución en la producción de leche (21%); por pérdidas de crías (3%) y \$ 469,850.00 dólares por reposición de vientres (76%), valores parciales que totalizan una pérdida anual de \$ 5,436,908.00 dólares (AGROCALIDAD, 2009). En el presente estudio las pérdidas económicas estimadas por año ascienden a \$ 5,939,618.82 dólares únicamente para la provincia del Cañar al considerar la seroprevalencia estimada con la prueba de Aglutinación en Placa

Un estudio realizado en Brasil en el año 2013, de las pérdidas económicas por brucelosis bovina, se estimó en \$ 211.00 dólares por cada vaca infectada (seropositiva), y de cerca de \$ 448 millones de dólares al año por brucelosis bovina en Brasil (Santos *et al.*, 2013), con relación al presente estudio la pérdida por animal no es significativamente mayor (\$ 264.90 dólares por vaca infectada).

Otro estudio realizado en el Estado de Khartoum en Sudan, sobre las evaluación de las pérdidas económicas debido a brucelosis bovina, determinan una pérdida anual de \$ 7, 293,084.6 dólares por brucelosis bovina, lo que correspondió a \$ 29.80 por bovino, \$ 50.7 por vaca y \$ 202.00 dólares por cada bovino infectado por *B. abortus* (Angara *et al.*, 2016), con relación al presente estudio las pérdidas económicas son similares.

Las estimaciones del impacto económico de la seroprevalencia de la brucelosis bovina en la provincia del Cañar tienen a futuro una utilidad importante, al ser una fuente para el diseño de políticas sanitarias tomando en consideración el costo-beneficio de las mismas.



## X. CONCLUSIONES

- El estudio de la seroprevalencia de *B. abortus* como factor de impacto en la reproducción bovina de la provincia del Cañar, se realizó en 44 hatos ganaderos seleccionados de manera aleatoria, se incluyó en el estudio a 419 bovinos hembra mayores a 2 años de edad en etapa reproductiva y lactancia y 28 sementales, para un total 447 bovinos; una muestra representativa estimada considerando en el cálculo el uso de la prueba de RB como prueba diagnóstica no perfecta y una seroprevalencia esperada del 2.95 %.
- La prevalencia de bovinos seropositivos a brucelosis bovina, en la provincia del Cañar, con las pruebas de diagnóstico de; Rosa de Bengala y ELISAc, se asemejan en 4.03 y 4.25% respectivamente y de 29,30% con el diagnóstico de Aglutinación en placa. En las parroquias de Déleg, Ingapirca, Pindilig y Biblián se identificó la mayor prevalencia de brucelosis bovina a los diagnóstico de Rosa de Bengala y ELISAc.
- La prevalencia de hatos con animales seropositivos a brucelosis bovina, en la provincia del Cañar, es de 15,90% al diagnóstico de ELISAc y de 13.63 % a la prueba de Rosa de Bengala y 56.81 % con el diagnóstico de Aglutinación en placa, la más alta. Las parroquias que tienen mayor número de hatos con animales seropositivos a brucelosis bovina son; Deleg, Taday, Ingapirca, Guapan y Pindilig a los dos diagnósticos; Rosa de Bengala y ELISAc.
- Analizando las variables de la encuesta epidemiológica se determinó que los animales pertenecientes a los hatos donde se presentaron problemas de metritis postparto y animales con esterilidad permanente tienen un mayor riesgo de ser seropositivos a la prueba diagnóstica de RB (13.78 y 5.19 Odds ratio, con un valor de  $p = 0 < a 0.05$ ), como factor de impacto en la reproducción bovina.
- Las pérdidas económicas totales en la provincia del Cañar por brucelosis bovina ascienden a \$ 5,939,618.82 dólares al año, si se considera la seroprevalencia estimada con la prueba de Aglutinación en Placa; \$ 861,548.81 dólares y \$ 816,950.98 dólares con las pruebas de RB y ELISAc, respectivamente.



## XI. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES

- Realizar estudios seroepidemiológicos de la brucelosis bovina periódicamente en la provincia del Cañar, para delinear una dinámica de esta enfermedad en la población bovina, mediante los diagnósticos de Rosa de Bengala y ELISAc, ya que los resultados se asemejan.
- Emplear un método de diagnóstico directo como PCR en los casos positivos a la prueba de RB y ELISAc, para determinar si es cepa vacunal o de campo a la que se están exponiendo los animales y a consecuencia de ello desarrollan anticuerpos.
- Implementar estudios de prevalencia de anticuerpos anti-brucella en las personas, en particular a ganaderos, técnicos de campo (Médicos veterinarios) y trabajadores de camales de los diferentes cantones de la provincia, donde existen mayor seroprevalencia de brucelosis bovina, ya que es un riesgo para la salud pública, y son estas personas la de mayor riesgo de entrar en contacto con el patógeno.
- Proponer una Ley Sanitaria, para el Control y Erradicación de la Brucelosis bovina y requerir al estado la implementación de fondos de compensación o indemnización económica agropecuaria, para mitigar las pérdidas económicas por el sacrificio sanitario de bovinos reactivos a brucelosis, considerando el costo-beneficio dado el impacto que tiene esta enfermedad en la producción bovina



## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCALIDAD. (2016). Manual de procedimientos para el control de brucelosis bovina. Quito, Ecuador: S/N.
- Adamu, S., Atsanda, N., Tijjani, A., Usur, A., Sule, A., & Gulani, A. (2016). Epidemiological study of bovine brucellosis in three senatorial zones of Bauchi State, Nigeria. *Veterinary World*, 9.
- AGROCALIDAD. (2009). Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina. En A. E. AGRO, Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina (págs. 11-20). Quito, Ecuador: S/N.
- Agurto, D. & Fernández, P. (2013). Prevalencia de brucelosis bovina en la parroquia Ingapirca, cantón Cañar, provincia del Cañar. (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Cuenca-Ecuador.
- Angara, T., Ismael, A., Ibrahim, A. & Osman, S. (2016 ). Assessment of the economic lossee due to bovine Brucellosis in Khartoum state, Sudán. *International Journal of Technical Research and Applications*, 85-90.
- Berhe, G., Belihu, K., & Asfaw, Y. (2007). Seroepidemiological Investigation of bovine brucellosis in the extensive cattle production system of Tigray region of Ethiopia. *Intern J Appl Res Vet Med*. 5(2):65-71.
- Bernués, A., Manrique, E., & Maza, M. (1997). Economic evaluation of bovine brucellosis and tuberculosis eradication programmes in a mountain area of Spain. *Elsevier Science B.V.*, 137-149.
- Blood, & Douglas. (2002). Manual de Medicina Veterinaria. En Blood, & Douglas, Manual de Medicina Veterinaria. (pág. 840). Barcelona: Mc Graw-HillIberoamericana.
- Blood, D., & Radostits, O. (1992). Medicina Veterinaria. En Medicina Veterinaria (pág. 1920). España: Iberoamericana, 7ª ed.
- Cabrera, V., Cárdenas, M. Prevalencia de brucelosis bovina en el Cantón Limón Indanza Provincia Morona Santiago. (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Cuenca-Ecuador.
- Calistri, P., Iannetta, S., Atzenia, M., & Di Bellab, C. (2013). Risk factors for the persistence of bovine brucellosis in Sicily from 2008 to 2010. *SciVerse Science Direct*, 329 334.
- Campero, C. (30 de 06 de 2000). Las enfermedades reproductivas en los bovinos: ayer y hoy. Obtenido de Las enfermedades reproductivas en los bovinos: ayer y hoy: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/29621/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/29621/Documento_completo.pdf?sequence=1)
- Cañar, G. P., & Gobierno Provincial, C. (01 de 05 de 2011). Gobierno Provincial del Cañar. Obtenido de Gobierno Provincial del Cañar: [http://www.gobiernodelcanar.gob.ec/public\\_html/paginas/informaciongeneral.63](http://www.gobiernodelcanar.gob.ec/public_html/paginas/informaciongeneral.63)





- Carlosoma, M. (2013). Aislamiento y Biotipificación de *Brucella spp.*, de reservorios animales seropositivos, en el centro de faenamiento de Tulcán. (Tesis de grado). Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador.
- Centers for Disease Control and Prevention . (01 de Julio de 2009). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Obtenido de Nations., Food and Agriculture Organization of the United: <http://www.cdc.gov/brucellosis/>
- D'Pool, G., Rivera Pirela, S., Torres, T., Pérez, M., García, A., & Castejón, O. (2004 ). Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el municipio la Cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ /Vol. XIV, Nº 2, 168 - 176.
- De Luca, L., & Burnet, L. (05 de 03 de 2002). Aborto bovino; causas, frecuencia, etiopatogenia, inmunidad. Recuperado el 01 de 12 de 2015, de El Sitio de la Producción Animal: [http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/enfermedades\\_reproduccion/37-aborto\\_bovino.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/37-aborto_bovino.pdf)
- Díaz, A., (2013). Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos, México DF, México. Revista Científica. Tecnológica. Off. int. Epiz., 2013, 32 (1), pág.; 43-51
- Díaz, E., Hernández, L., Ocha, V., Blasco, J., & Suárez, F. (2000). Evaluación de la prueba de Rivanol para el diagnóstico de brucelosis en caprinos. Vet. Méx, 31(1),1-6.
- Escobar, F. (2011). Incidencia – prevalencia y plan de control de brucelosis bovina en hatos lecheros de la sierra norte Ecuatoriana. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba Ecuador.
- ESPAC . (14 de 10 de 2015). Encuesta de Producción Agropecuaria Continua – INEC 2015. Recuperado el 21 de 10 de 2016, de Encuesta de Produccion Agropecuaria Continua - INEC 2015: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec//encuesta-deproduccion-agropecuaria-continua/>
- Espinoza, R. (2010). Prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Gualaquiza, Provincia de Morona Santiago. (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Cuenca-Ecuador.
- Fraser, & Clarence. (1993). El Manual Merck de Veterinaria. En Fraser, & Clarence, El Manual Merck de Veterinaria (pág. 2092). Barcelona: Océano, 4ª ed.
- Gädicke, P., & Monti, G. (2008). Aspectos epidemiológicos y de análisis del síndrome de aborto bovino, epidemiologia, control, 40, 223 -234.
- Gall, D., & Nielsen, K. (2004). Serological diagnosis of bovine brucellosis:. Rev. Sci. tech, 989-1002.
- Lucero, N., Escobar, G., Ayala, S., Hasan, D. (2008). Manual de Procedimientos. Técnicas para el Diagnóstico de Brucelosis Humana. Servicio de Brucelosis Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.



- Loor, E. (19 de 03 de 2012). Prevalencia de enfermedades de impacto sanitario y económico reproductivo en bovinos. Obtenido de Prevalencia de enfermedades de impacto sanitario y económico reproductivo en bovinos: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/articulos/prevalenciaenfermedades-impacto-sanitario-t4064/103-p0.htm>
- Mathew, C., Stokstad, M., Johansen, T., Klevar, S., Mdegela, R., Mwamengele, G., y otros. (2015). First isolation, identification, phenotypic and genotypic characterization of *Brucella abortus* biovar 3 from dairy cattle in Tanzania. *BMC Veterinary Research*, 11(156), 2.
- Mejia, K., & Lemus, C. (02 de 12 de 2012). Comparación de las pruebas Rosa de Bengala y Rivanol con ELISA para el diagnóstico de brucelosis bovina. Obtenido de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020212/021202.pdf>
- Merck, M. d. (1996). Manual de Merck de Veterinaria. . En M. d. Merck, Manual de Merck de Veterinaria. (págs. 323-332). Barcelona, Ecuador: Ed. Edt. Océano S.A.
- Meza, A., Morales, S., Ara, M., Manchego, A., Calle, S., & Angulo, C. (2010). Seroprevalencia de brucelosis bovina en el distrito de Puerto Inca, Huanuco. *Rev Inv Vet Perú* (2): 223-226.
- Moreno, C. (1999). Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en bovinos. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador.
- Mosquera, O., Freitez, R., & Rumbos, A. (2009). Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la Parroquia Buria, Municipio Simón Planas, estado Lara. Periodo 2006-2007. *Zootecnia Trop*, 27(3), 263-270.
- Muñoz, S. (2003). Factores de riesgo asociados a la seropositividad a *Brucella abortus* en ranchos de ganado bovino de pie de cría o ciclo completo del municipio de Tizimín, Yucatán, México. (Tesis de Posgrado) Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Neira, L. (1997). Determinación de la incidencia de brucelosis (*Brucella abortus*) por seroaglutinación y cultivo en cinco fincas ganaderas del Cantón Cañar. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador.
- Neppas, M. (2013). Prevalencia de brucelosis bovina mediante la prueba de anillo en leche (RING TEST) y Rosa de Bengala en la asociación agropecuaria el ordeño de la Chimba-Cayambe. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito, Quito.
- OIE. (01 de 05 de 2012). Bovine brucellosis. *OIE Terrestrial Manual 2012*, 616 - 650.
- OIE. (01 de 05 de 2012). Epidemiology of brucellosis in domestic animals. Obtenido de [www.oie.int: http://www.oie.int/doc/ged/D12405.PDF](http://www.oie.int/doc/ged/D12405.PDF)
- OPS. (2001). El control de las enfermedades transmisibles - Organización Panamericana de la Salud. Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública, 34-38.
- Paredes, S. R. (2012). Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alliriquin, recinto Cristal de Lelia. Santo Domingo, Ecuador.



- Pires, S., Mol, J., Chapeaurouge, A., Perales, J., Santos, R., Andrade, H., y otros. (2016). Proteomic profile of *Brucella abortus*-infected bovine chorioallantoic membrane explants. PLOS ONE, 1-16.
- Poster, F., Sanmartino, L., & Santos, R. (2013). Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 32(1):105-115.
- Reaves, P., & Pegram, C. (1987). El ganado lechero y las industrias lácteas en la granja,. En P. Reaves, & C. Pegram, El ganado lechero y las industrias lácteas en la granja, (pág. 594). DF, Mexico: Limusa, 1ª ed.
- Reyes, J., Sánchez, M., Lotero, M., Restrepo, M., & Palacio, L. (2010). Seroprevalencia e incidencia de *Brucella sp* en vacunadores del Programa para el control de brucelosis bovina, en el Departamento de Antioquia-Colombia. Rev Colomb Cienc Pecu, 23, 35-46.
- Sandoval, P. (19 de Agosto de 2016). Enfermedades de la reproducción en bovinos. Obtenido de ECUVET. Servicios Veterinarios del Ecuador:  
<http://ecuvet.blogspot.com/2016/08/enfermedades-de-la-reproduccion-en.html>
- Santos et al. (2013). Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. Pesq. Vet. Bras, 759 - 764.
- Secretaria de Salud Dirección General de Epidemiología. (2012). Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la brucelosis. Distrito Federal, México.
- SENASA. (2009). Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina.
- Laboratorios de referencia de la OIE para la brucelosis coordinación general de laboratorios animal dirección de laboratorio y control técnico.
- Soria, M., Mendez, S., & Leon, F. (2013). Enfermedades infecciosas de la reproducción bovina (pág. 13). Cuenca, Ecuador: Imprenta UNIGRAF.
- Thrusfield, M. (2007). Veterinary epidemiology (págs. 228 - 246). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Tique, V., González, M., & Mattar, S. (2009). Seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 51-59.
- Toma, C., & Hadrava, J. (23 de 11 de 2015). Mechanisms of pathogenicity, *Brucella abortus*.  
<https://mechpath.com/2015/11/23/brucella-abortus/#respond>
- Zambrano Aguayo, M. D., & Pérez Ruano, M. (2016). Brucelosis bovina en la provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los factores de riesgo. Rev Inv Vet Perú , 607 - 617.



XIII. ANEXOS

Anexo 1:

**Estimación del tamaño de muestra para estudios de encuestas epidemiológicas con uso de pruebas diagnósticas no perfectas (Sensibilidad y/o Especificidad menores a 100%) en poblaciones infinitas y el ajuste de tamaño de muestra estimado a poblaciones finitas (Cuando el tamaño de muestra es igual o mayor al 5% de la población).**

Nivel de confianza:	Z =	95 o 99	%	95	99	95	99
$Z_{(\text{valor del multiplicador})}$ :	=			1.960	2.576	1.960	2.576
Precisión absoluta:	d =	5 o 1	%	0.05	0.01	0.05	0.01
Prevalencia previamente estimada:	Pesp =	2.9	%	0.029	0.029	0.029	0.029
Sensibilidad de la prueba diagnóstica:	Sen =	81.2	%	0.812	0.812	0.812	0.812
Especificidad de la prueba diagnóstica:	Esp =	86.3	%	0.863	0.863	0.863	0.863

$$n = \left( \frac{Z_{(\text{valor del multiplicador})}^2}{d} \right) \times \frac{[(\text{Sen} \times \text{Pesp}) + (1 - \text{Esp})(1 - \text{Pesp})]}{(\text{Sen} + \text{Esp})^2}$$

Formula para el cálculo de tamaño de muestra:

Tamaño de muestra calculado:	n =	445	11135	769	19233
------------------------------	-----	-----	-------	-----	-------

Población total:	N =	140242	Unidades experimentales.		
------------------	-----	--------	--------------------------	--	--

Porcentaje de la población que corresponde a la muestra:	% =	0.32	7.94	0.55	13.71
--	-----	------	------	------	-------

Formula para el cálculo de tamaño de muestra ajustado a una población finita:



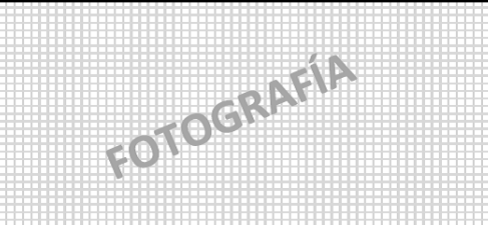
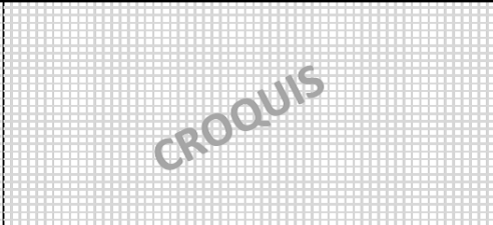
$$n_{\text{ajus}} = \frac{(N \times n)}{(N + n)}$$

Muestra ajustada al tamaño de la población:	$n_{\text{ajus}}$ =	444	10316	765	16914
---	---------------------	-----	-------	-----	-------

Nota: Únicamente colocar los datos en las celdas de color amarillo.




Anexo 2. Formulario de inspección y seguimiento a predios libres de brucelosis bovina.

 <b>Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro</b> <b>AGROCALIDAD</b> <b>FORMULARIO DE INSPECCIÓN Y SEGUIMIENTO A PREDIOS LIBRES DE BRUCELOSIS BOVINA</b>		 <b>AGROCALIDAD</b> <b>AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</b>
<b>I. IDENTIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN DEL PREDIO</b>		
1.Fecha (día/mes/año):		2.Nombre del encuestado:
3.Nombre del predio:		4.Nombre del propietario:
5.Número de cédula del propietario:		
6.Provincia:		7.Cantón:
8.Parroquia:		
9.Coordenadas UTM (GPS): Huso o zona: X: Y:		
10.Datos de contacto de la finca: Celular: E-mail: Telefono:		
11. El propietario posee otros predios?: 1.Si: 2.No: 12. Nombre del predio:		
13. Provincia:		14. Cantón:
15. Parroquia:		
<b>II. DATOS GENERALES DEL PREDIO</b>		
16.Superficie del predio: Superficie total: ha Superficie pastos: ha		
17.Tipo de producción: 1.L leche: 2.Carne: 3.Mixta: 18.Tipo de explotación: 1.Extensiva: 2.Intensiva: 3.Sogueo:		
19.Destino de la leche: 1.Consumo en predio: 2.Lechería: 3.Comerciante:		
20.Inventario de bovinos: Termeros: Toros: Vacas: Termeras: Vaconas:		
21.Inventario otros animales: Ovinos: Caprinos: Porcinos: Bupalinos: Caninos: Felinos: Equinos:		
22.Cerramientos externos en buen estado: 1.Si: 2.No: 23.Existe pediluvio para: 1.Vehículos: 2.Animales: 3.Humanos:		
24.Control del ingreso de personas: 1.Si: 2.No: 25.Control del ingreso de animales: 1.Si: 2.No:		
26.Tienen identificación individual los bovinos?: 1.Si: 2.No: 27.Posee manga, embudo o brete en buen estado?: 1.Si: 2.No:		
<b>III. MANEJO GENERAL DE ANIMALES Y POTREROS</b>		
28.Procedencia de los animales de reemplazo: 1.Del mismo predio: 2.De un predio libre: 3.Vecino: 4.Feria: 5.Comerciante:		
29.Categoría de animales que adquiere: 1.Termeros: 2.Termeras: 3.Vaconas: 4.Toretes: 5.Vacas: 6.Toros:		
30.Utiliza pastos comunales?: 1.Si: 2.No: 31.Arrienda sus potreros a otros ganaderos?: 1.Si: 2.No:		
32.Arrienda potreros de otros predios?: 1.Si: 2.No: 33.Utiliza el estiércol como abono en potreros?: 1.Si: 2.No:		
34.Procedencia del agua de bebida de los animales: 1.Rio: 2.Acequia: 3.Pozo: 4.Cisterna: 5.Lluvia:		
35.Lleva animales a ferias de exposicion?: 1.Si: 2.No: 36.Toma medidas de desinfección al regreso de la feria: 1.Si: 2.No:		
37.Tienen los trabajadores animales en el predio?: 1.Si: 2.No: 38.Están dentro del programa de predios libres?: 1.Si: 2.No:		
<b>IV. ASPECTOS SANITARIOS</b>		
39.Nombre del veterinario responsable: Celular: E-mail: Telefono:		
40.Frecuencia de la visita del veterinario: 1.Semanal: 2.Quincenal: 3.Mensual: 2.A pedido:		
<b>IV.I VACUNACIÓN</b>		
41.Existe un calendario de vacunación?: 1.Si: 2.No: 42.Que vacunas aplica?: 1.Triple: 2.Aftosa: 3.Cepa 19: 3.RB51:		
43.Fecha de primera vacunación contra brucelosis en el predio (día/mes/año):		44.Vacuna utilizada: 1.Cepa 19: 2.RB51:
45.Fecha de ultima vacunación contra brucelosis (día/mes/año):		46.Vacuna utilizada: 1.Cepa 19: 2.RB51:
47.Procedencia de las vacunas utilizadas: 1.Almacen de la localidad: 2.Almacen de la ciudad: 3.Veterinario:		
<b>IV.II REPRODUCCIÓN</b>		
48.Sistema de reproducción empleado: 1.Monta natural: 2.Inseminación: 3.Mixta: 4.Transferencia de Embriones		
49.Procedencia de las pajuelas utilizadas: 1.Predio: 2.Veterinario: 3.Almacén: 4.Comerciante:		
50.Usa un lugar específico para pariciones?: 1.Potrero: 2.Corral: 3.Parideras: 51.Desinfecta estos lugares?: 1.Si: 2.No:		
<b>IV.III PATOLOGÍAS (ocurridas en el último año)</b>		
52.Se han producido abortos en los dos últimos años, entre 6 y 8 meses de gestación?: 1.Si: 2.No: 44.Cuántos?:		
53.Destino de los tejidos abortados: 1.Entierra: 2.Incinerar: 3.Bota a la basura: 4.Deja en el lugar: 5.Consume:		
54.Existen retenciones de placenta?: 1.Si: 2.No: 55.Existe nacimiento de terneros débiles?: 1.Si: 2.No:		
56.Existen problemas de esterilidad en machos o hembras?: 1.Si: 2.No: 57.Existen metritis post parto?: 1.Si: 2.No:		
58.Presencia de hinchazon en articulaciones?: 1.Si: 2.No: 59.Existe epididimitis u orquitis en machos?: 1.Si: 2.No:		
<b>IV.IV PRUEBAS DIAGNÓSTICAS</b>		
60.Ha realizado pruebas de brucelosis en leche de su predio?: 1.Si: 2.No: 61.Resultados: 1.Positivos: 2.Negativos:		
62.Ha realizado pruebas sanguíneas de brucelosis en animales de su predio?: 1.Si: 2.No:		
63.Cuales?: 1.Rosa de Bengala: 2.ELISA: 64.Resultados: 1.Positivos: 2.Negativos:		
65.Destino de los animales positivos: 1.Permanecen en el predio: 2.Camal: 3.Venta:		
66.Nombre del Laboratorio: 1.ANIMALAB: 2.LIVEXLAB: 3.VETELAB: 4.ASO. HOLSTEIN: 5.AGROCALIDAD: 6.OTRO:		
<b>V. FOTOGRAFÍA Y CROQUIS DEL PREDIO</b>		
		
NOMBRE DEL VETERINARIO ENCUESTADOR:		FIRMA DEL ENCUESTADO:



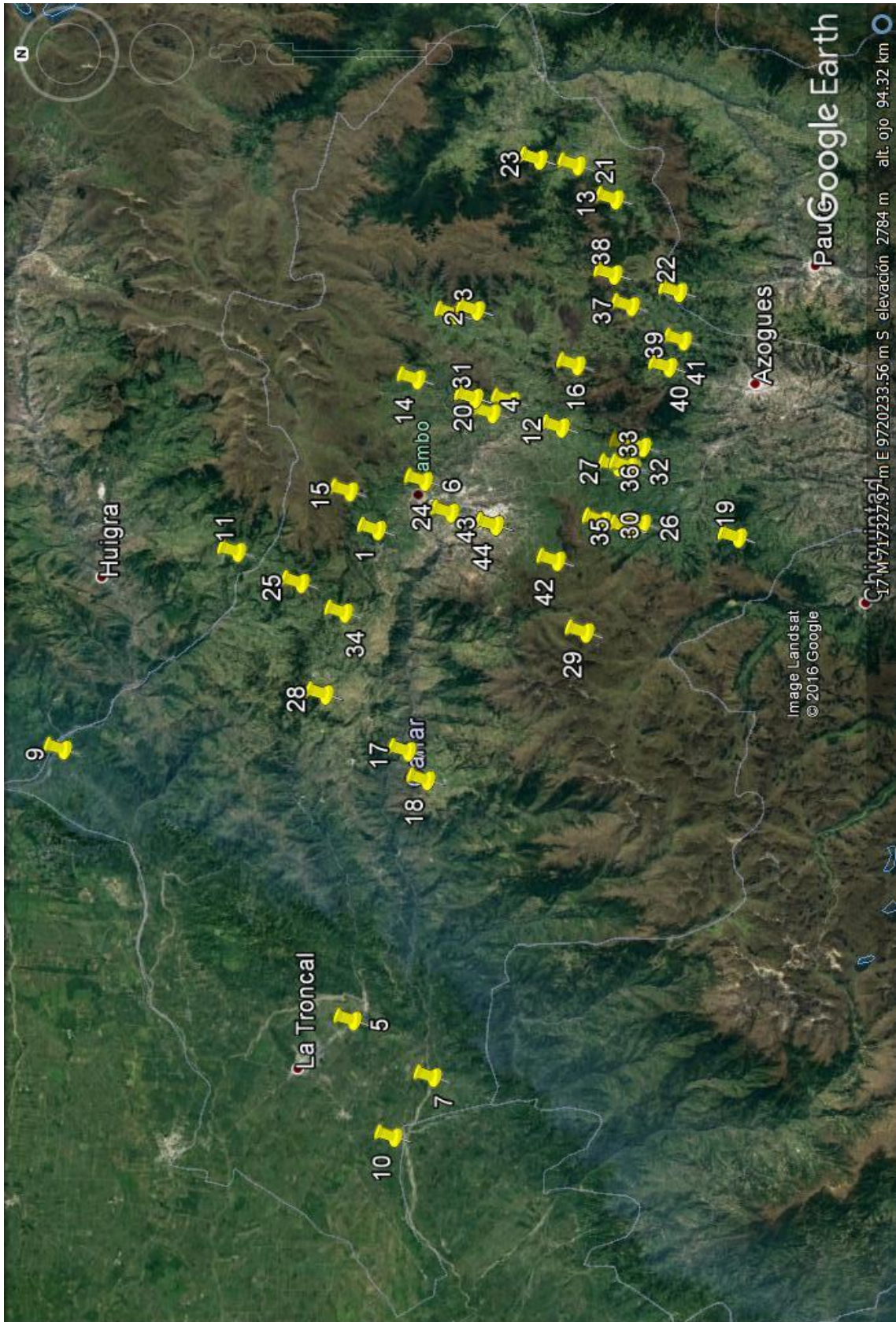
Anexo 3. Formulario de Orden de trabajo; para el envío de las muestras al laboratorio.

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA ECUATORIANA DE ASESORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO	<b>LABORATORIOS DE LA DIRECCIÓN DE          DIAGNÓSTICO ANIMAL</b> <b>*ORDEN DE TRABAJO</b> No. Secuencial: .....	PGC/LA/03-FO06 Rev. 4 Página 1 de 2									
	<b>1. DATOS DEL REMITENTE</b>										
	EMPRESA/INSTITUCIÓN: _____ TELÉFONOS: _____ NOMBRE DE QUIÉN ENVÍA: _____ CORREO ELECTRÓNICO: _____										
<b>2. DATOS DE LA(S) MUESTRA(S)</b>											
PROPIETARIO: _____ TELÉFONO: _____ No. CÉDULA/RUC: _____ CORREO ELECTRÓNICO: _____ NOMBRE DEL PREDIO: _____ GEOREFERENCIA MSNM: X: _____ Y: _____ PROVINCIA: _____ CANTÓN: _____ PARROQUIA: _____ LOCALIDAD/ DIRECCIÓN: _____ No. TOTAL DE ANIMALES: _____ No. DE ANIMALES ENFERMOS: _____ No. DE ANIMALES MUERTOS: _____ FECHA DE MUESTREO: _____ MUESTREADO POR: _____ FECHA DE ENVÍO: _____ DIAGNÓSTICO SOLICITADO (ENFERMEDAD/TÉCNICA): _____ MÉTODO/S: _____											
<b>3. DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN A LA(S) MUESTRA(S)</b>											
No. FACTURA: _____ No. FORM. INICIAL AGROCC.: _____ HOJA DE FILIACIÓN: <input type="checkbox"/> No. MEMORANDO: _____ OTROS (especifique): _____											
<b>4. TIPO DE CLIENTE</b>											
CLIENTE INTERNO: VIGILANCIA PASIVA: <input type="checkbox"/> VIGILANCIA ACTIVA: <input type="checkbox"/> CUARENTENA: <input type="checkbox"/> OTRO: <input type="checkbox"/> (especifique): _____ CLIENTE EXTERNO: <input type="checkbox"/>											
<b>5. PRESERVACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S)</b>											
NINGUNA: <input type="checkbox"/> REFRIGERACIÓN: <input type="checkbox"/> CONGELACIÓN: <input type="checkbox"/> FORMOL: <input type="checkbox"/> ALCOHOL: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____											
<b>6. TIPO DE MUESTRAS ENVIADAS</b>		7. No. MUESTRAS REMITIDAS									
SUERO SANGUÍNEO: <input type="checkbox"/> SANGRE (+EDTA): <input type="checkbox"/> TEJIDO: <input type="checkbox"/> HISÓPOS: <input type="checkbox"/> VACUNAS: <input type="checkbox"/> OTRO (especifique): _____											
<b>8. ESPECIE MUESTREADA</b>		9. No. ANIMALES MUESTREADOS									
PORCINO: <input type="checkbox"/> EQUINO: <input type="checkbox"/> BOVINO: <input type="checkbox"/> AVES: <input type="checkbox"/> OTROS (especifique): _____											
<b>10. DATOS ADICIONALES</b> (Historia, signos clínicos, hallazgos post mortem, comentarios, diagnóstico presuntivo, vacunas (especialmente fecha de aplicación de vacuna Cepa 19 para brucelosis; Laringotraqueítis Infecciosa Aviar, Bronquitis Infecciosa Aviar, Mycoplasma y Newcastle), etc. Usar hojas adicionales si es necesario). _____ _____ _____											
<b>**11. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS</b> (No: número secuencial de las muestras/ID muestras: nombre, arete, lote/raza: holstein, polanchino, pietrain etc. / edad: días=d; semanas=s; meses=m; años=a; ej: 21d, 4s, 3m, 4a3m / sexo: macho=M; hembra=H).											
No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C	No.	ID MUESTRA/RAZA	EDAD	SEXO	SINTOMAS (SI/NO)	TEMP. °C
<b>12. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DEL REMITENTE DE LA(S) MUESTRA(S):</b>						<b>13. NOMBRES, FECHA Y FIRMA DE QUIÉN RECIBE LA(S) MUESTRA(S):</b>					
NOMBRES:			FECHA:			NOMBRES:			FECHA:		
FIRMA:						FIRMA:					
<b>14. PARA USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO (Área Técnica del laboratorio)</b>											
MUESTRA(S) ACEPTADA(S) # (si/no)	Fecha:	HORA:	PLAZO DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS (días)	RECIBIDO POR (nombres y apellidos):	FIRMA:						
<b>15. OBSERVACIONES:</b>											

1 Observar en la parte posterior de la orden de trabajo donde se indica el método de ensayo a utilizar según el análisis. Si el método de ensayo no consta en la tabla correspondiente, detallar en la casilla de observaciones.  
 2 Llevar una orden de trabajo para cada especie y cada propietario o interesado, el original se enviará al Laboratorio y una copia a Vigilancia Epidemiológica.  
 3 Si se requiere tomar un número mayor de muestra en la misma OT usar la página 2 del formato.  
 Los resultados de los análisis solicitados podrán ser usados por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro, AGROCALIDAD, en caso de que se ponga en riesgo el estatus fitosanitario, zoonosario o de inocuidad de los alimentos.



Anexo 4: Georreferenciación de los hatos del estudio epidemiológico.





**Fotografías:**

**Fotografía 1. Trabajo en campo.** Recolección de las muestras (vena coccígea o yugular), encuesta epidemiológica, marcaje de bovinos seropositivos a brucelosis bovina y sacrificio sanitario en los camales autorizados por AGROCALIDAD.



**Fotografía 2. Trabajo en laboratorio.** Preparación e identificación de las muestras serológicas, antígeno de RB y reactivo de ELISAc.

