

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Prevalencia aparente de brucelosis bovina a través de
ELISA indirecto en 48 fincas de los cantones Rio Verde y
Quinindé, provincia de Esmeraldas
Trabajo de investigación**

Elcy Maigua

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 22 de mayo de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Prevalencia aparente de brucelosis bovina a través de ELISA indirecto en
48 fincas de los cantones Rio Verde y Quinindé, provincia de Esmeraldas**

Elcy Maigua

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Rommel L. Vinueza S., Dr.MSc.

Firma del profesor:

Quito, 22 de mayo de 2018

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Elcy Maribel Maigua Terán

Código:

00103930

Cédula de Identidad:

1725883092

Lugar y fecha:

Quito, 22 de mayo de 2018

RESUMEN

La brucelosis bovina es una patología zoonótica producida por la bacteria *Brucella abortus*. Esta patología produce grandes pérdidas económicas causadas por la baja en la producción, infertilidad y abortos. Debido a esto, se realizó un estudio epidemiológico descriptivo, transversal e intencionado para conocer la situación de Brucelosis bovina en los cantones Rio Verde y Quinindé de la provincia de Esmeraldas, Ecuador. Se comprobó además, mediante una revisión sistemática la existencia de 39 trabajos a nivel nacional sobre prevalencia de Brucelosis bovina en diferentes zonas del país, de los cuales solamente uno hace referencia a la provincia de Esmeraldas. Mediante la técnica Elisa indirecta en leche de tanque se corroboró una prevalencia aparente de 43.33% para Rio Verde y del 16.66% para Quinindé. Uno de los mayores riesgos asociados a la presencia de la enfermedad fue el desconocimiento de la misma por parte de los ganaderos, que conlleva a un sistema de vacunación deficiente sobre todo en zonas rurales. Se demostró la alta sensibilidad y especificidad de la técnica Elisa indirecto en leche de tanque, para el diagnóstico de fincas sanas y fincas infectadas. El presente estudio toma importancia porque se convierte en una herramienta para órganos reguladores del país, autoridades y los mismos ganaderos de la zona, para establecer estrategias específicas para las dos zonas pertenecientes a Esmeraldas.

Palabras clave: Brucelosis bovina, sensibilidad, especificidad, prevalencia aparente, pérdidas económicas, Elisa indirecto.

ABSTRACT

Bovine brucellosis is a zoonotic pathology produced by the *Brucella abortus* bacterium. This pathology produces great economic losses caused by the decline in production, infertility and abortions. Due to this, a descriptive epidemiological study was conducted, transversal and intentional to know the situation of bovine brucellosis in the cantons Rio Verde and Quinindé of the Esmeraldas province, Ecuador. It was also verified, through a systematic review, the existence of 39 works at national level about prevalence of bovine brucellosis in different areas of the country, of which only one refers to Esmeraldas province. The indirect Elisa technique in tank milk corroborated an apparent prevalence of 43.33% for Rio Verde and 16.66% for Quinindé. One of the greatest risks associated with the presence of the disease was the lack of knowledge on the part of the farmers, which leads to a system of vaccination deficient especially in rural areas. The high sensitivity and specificity of the indirect Elisa technique in tank milk was demonstrated for the diagnosis of healthy farms and infected farms. This study is important because it becomes a tool for regulatory bodies of the country, authorities and the same cattle ranchers in the area, to establish specific strategies for the two areas belonging to Esmeraldas.

***Key words:* Bovine brucellosis, sensitivity, specificity, apparent prevalence, economic losses, indirect Elisa.**

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
DESARROLLO DEL TEMA.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
 ANEXO A. SISTEMATIZACIÓN DE TRABAJOS REALIZADOS SOBRE BRUCELOSIS	
BOVINA.....	44
ANEXO B: DENSIDAD OPTICA DE CADA MUESTRA DE LECHE A 450NM.....	50
ANEXO C: RESULTADOS OBTENIDOS PARA M/P% (PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD) DE CADA MUESTRA	51
ANEXO D. RECEPCIÓN DE MUESTRAS DE LECHE DE TANQUE EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL VETERINARIO DE LA UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO ...	52
 ANEXO E. EXTRACCIÓN DE SUERO DE LECHE E IDENTIFICACIÓN CORRESPONDIENTE	
	52
ANEXO F. COLOCACIÓN DE CONTROLES POSITIVO, NEGATIVO, Y REACTIVOS EN LOS POSILLOS	53
ANEXO G. ADICIÓN DE LOS SUEROS DE LECHE EN LA PLACA	53
ANEXO H. EQUIPO QUE TRABAJÓ DURANTE EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SUERO DE LECHE POR ELISA INDIRECTO.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia aparente para Rio Verde

Tabla 2. Prevalencia aparente para Quinindé

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del área de estudio en la provincia de Esmeraldas, Ecuador

Figura 2. Prevalencia aparente de Brucelosis bovina en los cantones de estudio

INTRODUCCIÓN

El ganado bovino ha representado por años un papel importante en la vida del ser humano, ya que se aprovecha los productos obtenidos directamente del animal como lo es la carne, leche y sus subproductos. Sin embargo existen patologías que pueden afectar su producción como la brucelosis bovina producida por la bacteria *Brucella abortus*, la cual también representa un riesgo para el ser humano por ser zoonótica (D'Pool, et.al. 2004). La brucelosis bovina se transmite por vía digestiva, genital y contacto directo; mientras que el contagio al hombre se da por el consumo de subproductos contaminados principalmente. La patología se caracteriza por el aborto en el último tercio de la gestación, infertilidad y disminución de la producción. Dentro del Ecuador, la enfermedad provoca pérdidas económicas equivalentes al 2 o 3% de la producción ganadera (Sánchez, 2012). Por esta razón el Programa Nacional de Control de Brucelosis ha intentado tomar fuerza desde su creación en el 2009, teniendo como ejes fundamentales la vacunación, remoción de reactores positivos, vigilancia epidemiológica y el diagnóstico (Mariño-Jannaut, 2000). Dentro de estos, el diagnóstico es el paso inicial para establecer el estatus sanitario de una región del país y en base a esto tomar medidas específicas para el control de la enfermedad en dicha área. Por tal importancia, el diagnóstico debe usar un método específico, sensible y aceptado por la OIE, como Elisa indirecto (Maldonado, et.al, 2012). Elisa indirecto permite la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* usando como muestra el suero de leche, el cual representa de forma confiable el estado fisiológico del animal (Vanzini, et.al, 1998). Los estudios registrados a nivel del país sobre brucelosis bovina corresponden en su mayoría a tesis de pregrado con limitada distribución, con un único trabajo referente a Esmeraldas (Moncayo, 2015). Teniendo en cuenta que Esmeraldas es la segunda provincia en la costa con una importante población de ganado vacuno con 285941 cabezas (INEC, 2016); resulta preocupante no tener suficientes datos de la provincia. Con todos los antecedentes, el siguiente

estudio buscó contribuir con datos sobre la seroprevalencia de la enfermedad en una de las zonas de las cuales se tiene menor información usando una técnica de diagnóstico confiable. Este es un paso inicial para establecer el estatus sanitario de dicha área. Se determinó la prevalencia aparente de Brucelosis bovina mediante la técnica ELISA indirecta para leche de tanque en fincas de los cantones Rio Verde y Quinindé en la provincia de Esmeraldas, con la participación de predios pertenecientes al programa “Planes de Finca” impulsados por el GADPE e IICA.

DESARROLLO DEL TEMA

Epidemiología de la enfermedad:

La brucelosis es una patología zoonótica causada por la bacteria *Brucella spp.* que afecta al ganado bovino, caprino y porcino; sin embargo, no se descarta el contagio a otras especies como animales silvestres, domésticos, mamíferos marinos y se incluye el hombre (D'Pool, et.al. 2004). En bovinos el agente específico corresponde a la bacteria *Brucella abortus*, el cual tiene afinidad por el útero, glándulas mamarias, testículos, glándulas sexuales, vainas tendinosas, ganglios linfáticos y es en estos últimos donde se produce su replicación (Acha & Szyfres. 2003). En vacas no gestantes la bacteria se ubica en el útero y la glándula mamaria. Es precisamente la infección del conducto galactóforo de la glándula mamaria la fuente más importante de contaminación zoonótica a los seres humanos (Acha & Szyfres. 2003). La bacteria puede sobrevivir en ambientes a baja temperatura y humedad por largos períodos, y por el contrario, es bastante sensible al calor a temperaturas superiores a 60° C (Blasco. 2012).

La replicación y fijación de la bacteria en el útero del animal se da por la sustancia eritritol propia de la placenta. Diferentes estructuras como el alantocorion, líquidos fetales y cotiledones de la placenta se ven invadidos por la bacteria causando destrucción de las vellosidades y por consiguiente el aborto, el cual se produce en el último tercio de la gestación. Esto se convierte en el principal signo clínico de la brucelosis bovina (Acha & Szyfres. 2003). La afinidad de la bacteria por tejidos reproductores de macho y hembra causa además retenciones placentarias, infertilidad, baja en la producción de leche, epididimitis y orquitis en machos; por ende la enfermedad conlleva pérdidas económicas (AGROCALIDAD, 2016). Además presenta un cuadro clínico que no suele identificarse de manera temprana, por lo que

es común detectarla en su forma crónica y esto dificulta su completa curación, dando como resultado el sacrificio de los animales infectados (Sánchez, 2012).

El período de incubación de la bacteria tanto en animales como en el hombre va de 1 a 3 semanas, pudiendo durar meses. En cuanto a la transmisión en bovinos, la principal vía de contagio es la oral cuando las vacas lamen los fetos abortados y descargas genitales. Los terneros pueden infectarse en el útero o al beber leche de vacas infectadas. Se debe tener en cuenta que la excreción de la bacteria se da desde los 39 días post infección, con una descarga masiva en el aborto, y continuando por 15 días adicionales (AGROCALIDAD, 2016). En cambio el hombre contrae la infección durante el manejo de animales, ingestión de leche sin pasteurizar y productos derivados y contaminados. Los animales portadores de la enfermedad que entran en contacto con el hombre, representan un riesgo zoonótico permanente (Espinosa, 2011). Dentro de los diagnósticos diferenciales que se debe tomar en cuenta están Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Leptospirosis, Campylobacteriosis y Trichomoniasis (SAG, 2014).

Situación internacional y nacional de la Brucelosis Bovina:

La brucelosis bovina ha representado por años un problema sanitario y económico, siendo peligrosa por ser una patología antropozoonótica distribuida mundialmente. Por tal importancia forma parte de la lista de enfermedades de declaración obligatoria (AGROCALIDAD, 2013). Sin embargo, existen países y regiones que han logrado su erradicación mediante programas de control exhaustivos como la mayoría de los que pertenecen a la Unión Europea. Dicho programa fue desarrollado desde el año 1975 viendo su más importante progreso en los últimos años (Muñoz, 2018). Gracias a esto, para el 2014 la Unión Europea contó con 14 países y 4 regiones de los estados miembros oficialmente libres de brucelosis bovina (European Commission, 2014).

Algunas de las estrategias que incluyó la Unión Europea para lograr dicho estatus fueron la vigilancia epidemiológica, diagnóstico, vacunación y control de movilización. Tomando como paso inicial el incremento paulatino del censo bovino nacional de los países que lo conforman hasta lograr la totalidad del mismo (Tribunal de Cuentas Europeo, 2016). Mediante esta información se pudo realizar pruebas sobre cada animal sin exceptuar ninguno, siendo un rebaño positivo aquel con un solo animal infectado o sospechoso. El programa establece el sacrificio obligatorio de dicho animal quedando totalmente prohibido la aplicación de tratamiento o uso de vacunas, y adicionalmente vacío sanitario de la explotación (European Commission, 2009). Otra de las estrategias establecidas consiste en medidas profilácticas sobre las explotaciones donde se detectó bovinos positivos a la enfermedad, tanto en instalaciones, pastos, control en el movimiento de animales y reposición de animales sacrificados (Muñoz, 2018). Dentro de estas medidas profilácticas la más importante es un programa de vacunación de todo bovino sano perteneciente a un hato.

De todas las estrategias mencionadas, es fundamental “la intensificación de las pruebas diagnósticas para elevar con la mayor brevedad posible su clasificación sanitaria” (Muñoz, 2018). Dichas pruebas diagnósticas deben ser Elisa en leche dos veces al año o bien una Elisa serológica. En definitiva, tanto la vigilancia, el sistema de notificación, la contribución financiera de la UE, la trazabilidad y el diagnóstico de la enfermedad fueron y son ejes fundamentales para cumplir con el programa de control de la enfermedad y mantenerse por años libres de la misma (Muñoz, 2018). Este plan de control establecido de forma rigurosa ha logrado posicionar a la Unión Europea como los principales competidores en productos bovinos libres de enfermedades como brucelosis bovina. La mayoría de países o regiones que lo conforman están libres de la enfermedad, atreviendo a declararse completamente libres para el 2018 (Muñoz, 2018). Países como los pertenecientes a la Unión Europea se convierten en

modelos a seguir para lograr el control y erradicación de brucelosis bovina en otros lugares del mundo.

Si bien, la prevalencia de brucelosis en humanos no es bien conocida, “se estima que a nivel mundial afecta a 500.000 personas al año, especialmente en países del área mediterránea, Arabia, India, México, América Central y Sudamérica” (Zambrano & Pérez, 2015), representando el 0.6% de la población mundial. En Ecuador, la enfermedad está bajo una vigilancia pasiva sin ser obligatoria su declaración desde el 2008, por lo que no se tienen datos certeros sobre la prevalencia de la enfermedad en personas (Ron Roman et al. 2014). Sin embargo el Ministerio de Salud Pública ha registrado 152 personas infectadas por brucelosis entre 1998 y 2007 según datos del INEC (AGROCALIDAD, 2016).

A nivel de Ecuador, es importante mencionar que el sector ganadero aporta con alrededor del 7.59% del Producto Interno Bruto (Banco Central del Ecuador, 2015), representando una de las ramas más importantes de la economía del país. Por este motivo, la característica epidemiológica y evolutiva de la enfermedad ha provocado un impacto social y económico superior a otras enfermedades reproductivas dentro del Ecuador. Se sabe que en el país, la enfermedad “provoca pérdidas anuales de 5.5 millones de dólares a causa de abortos, reducción de la producción de leche y mortalidad” (AGROCALIDAD. 2009). Estas pérdidas equivalen al 2 o 3% de la producción ganadera añadiendo el gasto dedicado a atención sanitaria y conservación de la salud (Sánchez, 2012). Adicionalmente, se generan pérdidas económicas indirectas, ya que el Ecuador no puede exportar carne bovina a grandes países porque la comercialización internacional exige que los alimentos de consumo humano sean inocuos (Zambrano, Pérez, & Rodríguez, 2016).

Para seguir el ejemplo de países más desarrollados, desde el año 2009 en el Ecuador se estableció el “Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina” establecido por AGROCALIDAD, el cual se fundamenta en las estrategias dictadas por la OIE en el “Código

Sanitario para los Animales Terrestres” capítulo 8.4 y 11.3 referente a bovinos (OIE, 2015; OIE, 2011). El programa considera la vacunación, remoción de reactores positivos, vigilancia epidemiológica y el diagnóstico (Mariño-Jannaut, 2000). Dichas estrategias de control dependen también del estado epidemiológico de cada región del país, por lo que se necesita tener datos actualizados de cada uno. Entonces se vuelve necesario realizar pruebas diagnósticas en cada región del Ecuador, y es precisamente este aspecto el que no se ha logrado completar (Zambrano, Pérez, & Rodríguez, 2016).

El Ecuador también se ha esforzado en llevar un registro del número de cabezas de ganado correspondiente a cada provincia del país, siendo el último registro virtual en 2016 en la “Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua” (INEC, 2016). Resultando difícil cumplir este objetivo en zonas rurales. Desde el año que se estableció el Programa de Control, se han venido realizando estudios para conocer la situación de la enfermedad en diferentes regiones del país. La mayoría de los trabajos registrados están direccionados a establecer la prevalencia de la enfermedad en zonas pertenecientes a la provincia de Manabí, y algunas provincias de la Región Sierra. Sin embargo, el único estudio enfocado en conocer la situación de la provincia de Esmeraldas fue realizado en el 2015 por Moncayo, y es el único registro que se tiene de dicha provincia.

Pruebas diagnósticas:

Como parte integral en los programas de control de brucelosis el diagnóstico de la enfermedad es el primer paso para establecer el estatus sanitario de una región (Maldonado, et.al. 2012). Este debería ser realizado a través de un método específico, sensible y que detecte todas las fases de la infección. Las técnicas aprobadas por AGROCALIDAD son aglutinación rápida en placa (Rosa de Bengala) que es de carácter cualitativo. Esta prueba es capaz de detectar anticuerpos IgM e IgG. La aglutinación ocurre cuando la muestra contiene anticuerpos

contra *Brucella abortus* y es enfrentado al antígeno de Rosa de Bengala, el fenómeno ocurre dentro de los cuatro primeros minutos (Sánchez, 2012). Este tipo de test indirecto está aceptado por la OIE como prueba tamiz, sin embargo, esta prueba tiene una debilidad, ya que existe la presencia de resultados falsos negativos que pueden estar relacionados con casos iniciales o tardíos de la infección. Por otro lado pueden existir falsos positivos por anticuerpos por vacunación, reacciones cruzadas o falla en la ejecución de la prueba (Castro, González, & Prat, 2005). Autores como McGiven y sus colaboradores indican que “las pruebas de aglutinación pueden considerarse menos sensibles y específicas que Fijación del complemento, ELISA competitivo, ELISA indirecto y Fluorescencia Polarizada” (2003). De estas alternativas las técnicas de ELISA para el diagnóstico de Brucelosis pueden identificar títulos de anticuerpos significativamente más bajos de los que pueden detectar otras pruebas como Rosa de bengala” (D’Pool, et.al. 2004; McGiven et al. 2003).

La prueba de Elisa indirecto tiene como ventaja agilizar y reducir el estrés de los bovinos durante la toma de muestra gracias a la fácil manipulación y rapidez. Representa también una ventaja económica para el ganadero en áreas productoras de leche, ya que el costo de muestreo es muy bajo. Elisa indirecto se considera una herramienta de vigilancia epidemiológica ya que permiten definir el estado de infección a nivel parroquial, provincial o poblacional (Vanzini, et.al. 1998). Se sabe además que “el suero de leche se relaciona bien con el suero de sangre permitiendo reflejar el estado fisiológico del animal” (Vanzini, et.al. 1998). Por lo tanto, de los tipos de ELISA existentes, el Elisa indirecto que usa suero de leche se considera altamente sensible y específico para anticuerpos contra *Brucella abortus*, y adicionalmente es aceptado por la OIE para estudios de prevalencia.

El test de ELISA indirecto utiliza un lipopolisacárido liso de *Brucella abortus* cepa 1119-3 biotipo 1 como antígeno (Nicola, Sebastián. 2009), además un anticuerpo monoclonal para un epítipo específico de IgG bovina, el cual estará conjugado con HRPO (peroxidasa de

rábano) como marcador enzimático para su respectiva detección. Contiene también agentes quelantes de cationes divalentes EDTA y EGTA para reducir posibles reacciones no específicas (AGROCALIDAD, 2016). Este método permite amplificar la señal ya que el sistema de detección emplea dos anticuerpos, uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primero. Esta es la razón por la cual presenta mayor sensibilidad, al poder unirse uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. Usando esta técnica la detección del patógeno en leche de tanque es un sistema relativamente barato, sencillo y confiable para establecer el diagnóstico sanitario de una finca (AGROCALIDAD. 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó el kit de Elisa indirecto “Brucellosis Antibody Test Kit (Tank milk)”, que mide anticuerpos anti-*Brucella abortus*, de la casa comercial IDEXX. Este kit está diseñado para el análisis de 96 muestras de leche de tanque.

Área experimental

El área se sitúa en la provincia de Esmeraldas, región Costa, con una superficie de 15216 Km², una altitud de 15 msnm, con temperatura media anual de 25.6°C y una precipitación media de 738mm (Clima-Data, 2018). La provincia presenta una población ganadera correspondiente a 285941 cabezas de ganado (INEC, 2016), siendo la segunda provincia con más cabezas de ganado en el país. El estudio se desarrolló en parroquias de los cantones Río Verde y Quinindé, de la zona norte y sur de la provincia respectivamente (Figura 1).

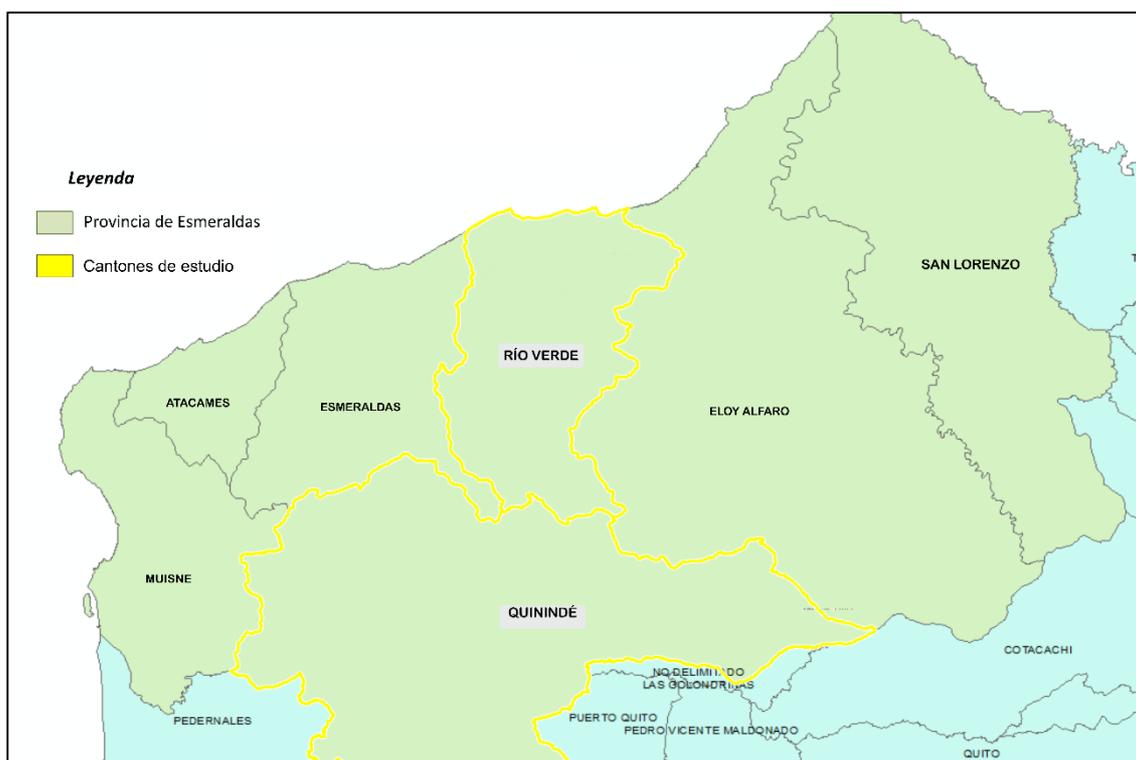


Figura 1. Mapa del área de estudio en la provincia de Esmeraldas, Ecuador

Diseño de estudio

Para determinar la prevalencia aparente de brucelosis bovina se realizó un estudio epidemiológico descriptivo transversal e intencionado, en donde se incluyó 48 fincas ganaderas de los cantones Quinindé y Rio Verde de la Provincia de Esmeraldas durante el periodo comprendido entre Julio a Octubre del 2017.

Población de estudio

La población de estudio se conformó de 48 muestras de leche provenientes de tanque, haciendo referencia a 30 fincas de Rio Verde y 18 fincas de Quinindé, todas dedicadas a la producción lechera y subproductos. Cada finca ganadera maneja alrededor de veinte bovinos.

Recolección de muestras:

Se trabajó con la colaboración de la prefectura de la provincia de Esmeraldas (GADPE) y el IICA para el muestreo, ya que las fincas participantes pertenecen al programa “Planes de finca”. Por otro lado, el diagnóstico fue realizado en la Universidad San Francisco de Quito en el Laboratorio de Entomología Médica y Medicina Tropical, y el Laboratorio de Diagnóstico Clínico del Hospital Veterinario de la universidad.

Las condiciones de manejo de las muestras de leche se consideraron desde la toma de muestra y fue realizado por personal instruido en el tema cumpliendo con ciertos requisitos sugeridos por AGROCALIDAD:

- Las muestras de leche provenientes de tanques de recolección se tomaron en su estado crudo con la grasa homogeneizada, asegurándose de no contaminar el contenido de un tanque con otro (AGROCALIDAD, 2017).
- Se tomó una muestra de 15 ml por tanque independientemente del volumen del tanque, para asegurar un volumen adecuado de suero.

- Para la recolección de muestras se emplearon frascos de orina estériles (identificada con su procedencia, fecha y hora de recolección, y ubicación geográfica), que aseguraron un cierre hermético para que no se derrame la muestra o ingrese alguna otra sustancia (AGROCALIDAD, 2017).
- Se mantuvo refrigerado los contenedores con las muestras a 4-8°C (ICA, s.f.).
- Para el traslado de las muestras se aseguró de mantener la cadena de frío, y se aseguró que no existieran muestras de leche cortada (ICA, s.f.). Las muestras fueron trasladadas al siguiente día, por lo que no se necesitó de aditivos para su conservación.

Procesamiento y análisis de leche:

Las muestras de leche se consideraron de alto riesgo biológico. Cada muestra de leche pasó por ciertos niveles de aceptación como coloración y consistencia cremosa. Después fueron procesadas para extraer el respectivo suero el cual se mantuvo en congelación entre -18 y -30°C hasta su pertinente uso, según los estatutos mencionados por AGROCALIDAD. Para la extracción de suero se descongeló a temperatura ambiente de 18°C a 25°C y se centrifugó a 3500 rpm por 15 minutos. Posteriormente se eliminó el exceso de grasa para conservar el suero de leche; este se recolectó con micropipeta usando micropuntas individuales por muestra para evitar contaminación entre muestras. El volumen que se obtuvo para realizar la prueba de Elisa indirecta fue de 1.5ml con un duplicado de cada uno para mantener en reserva por cualquier inconveniente (ICA, s.f.). Una vez extraído el suero se mantuvo en congelación hasta el día del procesamiento. Para esto se usó una técnica recomendada por la OIE como lo es Elisa indirecto, con el kit Brucellosis Antibody Test Kit (Tank Milk) de IDEXX para medir anticuerpos contra *Brucella abortus*. Se siguieron las especificaciones del kit para el procesamiento, cálculo de seropositividad por muestra y la interpretación de resultados.

Parámetros de interpretación

Para el cálculo del porcentaje de seropositividad de cada muestra se usó la fórmula matemática proporcionada por el propio kit comercial Brucellosis Antibody Test Kit (Tank Milk) de IDEXX el cual hace relación entre DO muestra y DO control positivo (M/P%). Se siguieron los criterios de validación de la placa que indica el inserto del kit, al igual que los parámetros de interpretación indicados para considerar una muestra positiva o negativa.

Negativos: $\frac{M}{P}\% \leq 45\%$

Sospechoso: $45\% < \frac{M}{P}\% < 55\%$

Positivos: $\frac{M}{P}\% \geq 55\%$

Resultados:

Dada las especificaciones para interpretar los resultados obtenidos en el kit de Elisa indirecto, se obtuvo 13 casos fincas positivas de las 30 muestreadas en Rio Verde (Tabla 1). En el caso de Quinindé se obtuvieron 3 fincas positivas de 18 muestreadas (Tabla 2). La prevalencia aparente calculada fue 43.33% para Rio Verde y 16.66% para Quinindé (Figura 2).

TABLA 1.- Prevalencia aparente para Rio Verde

	Numero de muestras	Prevalencia aparente
Positivo	13	43.33%
Negativo	16	
Sospechoso	1	

Fuente: La investigación

Elaborado por: El autor

TABLA 2.- Prevalencia aparente para Quindé

	Numero de muestras	Prevalencia aparente
Positivo	3	16.66%
Negativo	15	

Fuente: La investigación

Elaborado por: El autor

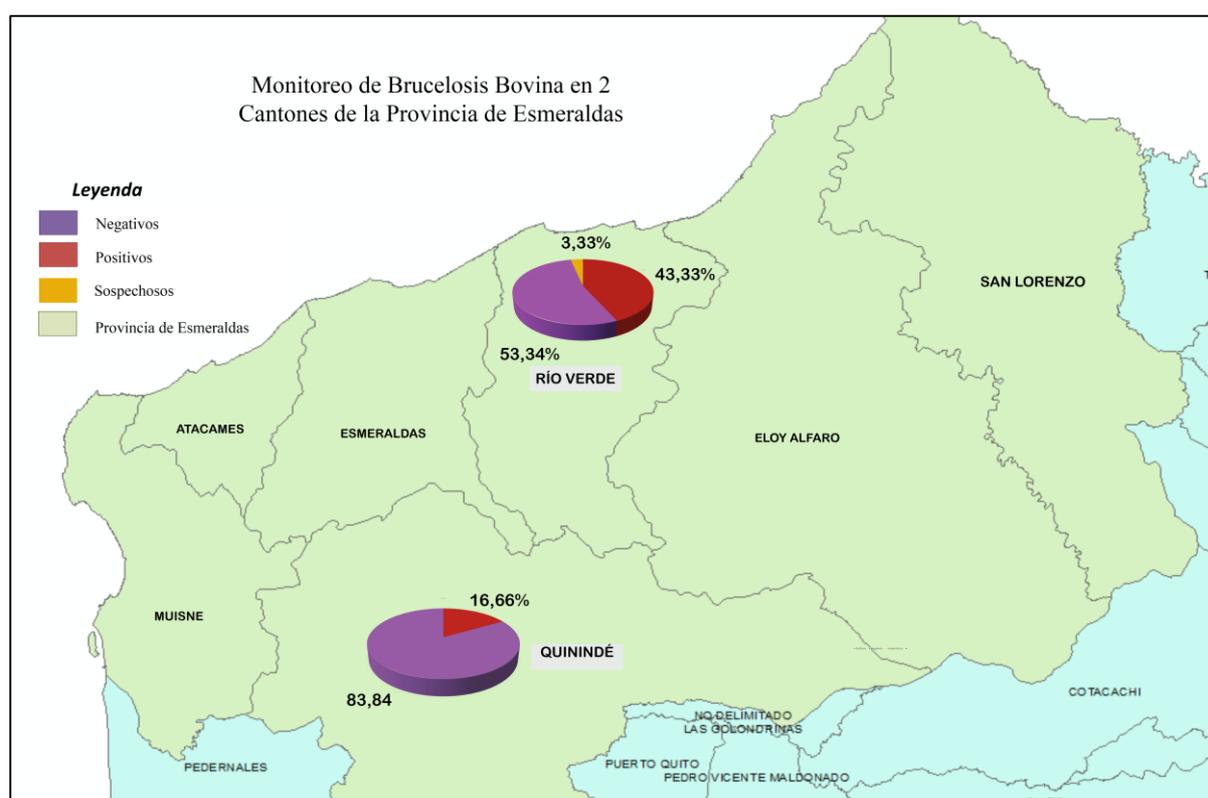


Figura 2.- Prevalencia aparente de Brucelosis bovina en los cantones de estudio

DISCUSIÓN

Es necesario tomar en cuenta que muchas de las pruebas existentes tienen limitaciones en cuanto a sensibilidad, especificidad, costos, disponibilidad y acceso por parte de los ganaderos (Peña, et al. 2014). Dentro de éstas, la OIE ha admitido pruebas tamices y pruebas confirmatorias. Es por ello que la mayoría de estudios en el país han sido realizados con el método Rosa de Bengala considerada una prueba tamiz y de bajo costo. Sin embargo esta técnica no detecta estados iniciales de la enfermedad o estados tardíos, lo que representa una debilidad si se quiere determinar la prevalencia confiable de una zona o una finca (AGROCALIDAD, 2016). Por este motivo para este estudio se eligió una prueba aceptada por la OIE como prueba confirmatoria. El Elisa indirecto que usa suero de leche se volvió útil en este estudio para la vigilancia epidemiológica de *Brucella abortus*. Esta prueba se fundamenta en el hecho de que las concentraciones de IgG en leche se relacionan bien con los niveles séricos en sangre, por lo tanto, se puede suponer de manera lógica que la leche puede reflejar el estado fisiológico del animal (Vanzini, et.al. 1998). Elisa indirecto para leche de tanque permite detectar incluso un solo caso positivo por su nivel de sensibilidad del 95% para este caso, tomando en cuenta que la densidad de color es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos anti-*Brucella abortus* presentes en la muestra (Martínez, 2017). En el 2017 se realizaron estudios para la validación del Kit comercial Brucellosis Antibody Test Kit (Tank Milk) el cual es utilizado por AGROCALIDAD, en donde se obtuvo una sensibilidad analítica hasta la dilución 1/32 para la casa comercial IDEXX (Martínez, 2017), y otro estudio realizado en Colombia confirma la misma información para la técnica Elisa indirecto (Rivera, et.al. 2003). Dicha investigación avala que los resultados obtenidos en este estudio son confiables, demostrando que Elisa indirecto es capaz de reconocer sujetos enfermos y sanos de una población (Martínez, 2017). Por lo tanto, el test permitió analizar leche de tanque con la misma sensibilidad y especificidad, permitiendo detectar rápidamente las fincas positivas y

sospechosas. Las fincas que resultaron positivas reflejan la necesidad de una prueba confirmatoria en cada uno de los bovinos para identificar cuáles son los animales afectados y acercarnos a una situación más real de la enfermedad en cada finca y por consiguiente de la zona (Vergara, et al. 2006); dejando así una puerta abierta para una nueva investigación. Por medio de Elisa indirecta, se detectó una prevalencia aparente de 43.33% de fincas afectadas en el cantón Rio verde, y de 16.66% en Quinindé. Estos valores conseguidos demuestran que al menos en una de las dos zonas de importancia ganadera de Esmeraldas la presencia de brucelosis es relativamente alta en relación a la muestra utilizada.

La alta proporción de fincas positivas obtenidas en este trabajo es de relevancia, ya que los únicos datos confiables hasta la actualidad han expuesto prevalencias de brucelosis de 4.2-10% en Esmeraldas por AGROCALIDAD en el año 1979, siendo uno de los dos únicos estudios a nivel de todo el país sobre la enfermedad aparte de Carbonero y sus colaboradores en 2018. A partir de entonces, solo existen publicaciones referentes a tesis de grado, o tesis de maestrías no publicados oficialmente en revistas científicas. Esta información se obtuvo realizando una sistematización de los trabajos publicados sobre el tema a nivel del país en los buscadores PubMed, EBSCO, Springer link, Google Scholar Search Engines y Scielo, así como la Red de Repositorios de las Universidades Ecuatorianas, tomando en cuenta el periodo 2003-2017 (ver Anexo 1). Haciendo mención a la provincia de Esmeraldas solo se presenta una tesis de grado en donde se determina una prevalencia de 18% para dicha provincia (Moncayo, 2015). De presentarse la proporción referida por Moncayo en 2015 con la técnica Rosa de Bengala y comparándolo con los resultados obtenidos en este estudio por medio de Elisa indirecta, se podría indicar que la prevalencia de brucelosis en la zona estaría subestimada. Sin embargo, sería importante también considerar que la prevalencia en cada cantón puede variar significativamente, justificando la diferencia en prevalencias de este trabajo con el de Moncayo en 2015. Esta variación obtenida por el presente trabajo permite tener una idea del estatus

sanitario actual de dos zonas importantes en la provincia dedicadas a la producción de leche, y por consiguiente la posibilidad de tomar medidas preventivas específicas para mejorar el problema a través de nuevos proyectos.

La proporción de fincas contaminadas con brucelosis bovina resultó ser más alta en uno de los dos cantones, siendo este Rio Verde. Con el fin de analizar los factores causales que podrían estar relacionados a un resultado positivo en la finca muestreada, durante la recolección de muestras se decidió realizar una entrevista con los propietarios acerca de la enfermedad. Durante las entrevistas se pudo confirmar que en la mayoría de fincas muestreadas los propietarios no conocían sobre la enfermedad y algunos únicamente habían oído hablar de ella. Esto indica que la posibilidad de que se estuviera tomando medidas preventivas como vacunación era prácticamente nula en dichas zonas. Esta percepción que el productor tiene en cuanto a la brucelosis bovina claramente repercute en las tasas prevalentes de la enfermedad, ya que toda finca positiva estuvo relacionada a un propietario que no conoce sobre la enfermedad. Este análisis concuerda con varios estudios realizados en diferentes zonas dentro del país y fuera de él, atribuyendo la enfermedad sobre todo al desconocimiento de la misma como lo menciona Escobar (2011), Ventocilla y sus colaboradores (2009), Zambrano (2016) entre otros.

El desconocimiento de la brucelosis tiene como resultado características productivas pobres y mal manejo de los animales, dando al productor poca ganancia económica. En la mayoría de fincas muestreadas las condiciones sanitarias eran deficientes, siendo regular la convivencia de los bovinos con otras especies, la falta de asesoramiento veterinario, monta natural, uso de agua de pozo, manejo de fetos abortados por el propio propietario o falta de cuarentena de vacas que abortan. Debido a estos factores el contagio de brucelosis a humanos era también muy probable.

Desde que el programa de control de brucelosis bovina se estableció han existido varios obstáculos para poder cumplirlo, y son precisamente estos los que se busca ir corrigiendo con el pasar del tiempo. Uno de los principales obstáculos es justamente el desconocimiento de la enfermedad por parte de los productores a nivel rural, ya que esto dificulta el cumplimiento de la mayoría de las estrategias para el control de la enfermedad. Se ve afectado tanto el sistema de notificación, la vacunación, diagnóstico y eliminación de animales positivos; claves fundamentales para el control y erradicación de la enfermedad. Al no entender la patogenia de la enfermedad y su peligro zoonótico, el ganadero no le da la debida importancia a su prevención, evitando el control de la enfermedad en una determinada zona. Pese a que el diagnóstico es uno de los pasos iniciales para establecer el estatus sanitario, en nuestro país sería necesario ir un paso más atrás y hacer la concienciación del productor en cuanto a todo lo que implica la enfermedad.

Es debido a la falta de información sobre la enfermedad y reposición de animales eliminados que los ganaderos evitan la notificación de este tipo de patologías. En este aspecto la Unión Europea tuvo una gran ventaja, ya que dedicó un gran aporte financiero a la concienciación de los productores y reposición de animales (Muñoz, 2018), un hecho que en Ecuador no ha sucedido. Por consiguiente, los reactores positivos que se mantienen representan un foco de diseminación y permanencia de la enfermedad.

Otra de las características que se pudo observar a nivel de fincas, es que los animales nuevos eran provenientes de ferias; es decir sin ningún tipo de registro de salud o vacunación. La puerta de entrada a la enfermedad era muy probablemente este aspecto, ya que una de las medidas más importantes para el control de la brucelosis bovina en una explotación ganadera es el manejo de un programa de vacunación adecuada (AGROCALIDAD, 2016). Es precisamente esto en lo que se enfoca el Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina; realizando campañas de vacunación contra la enfermedad se busca crear inmunidad en los

animales (Zambrano, 2016). Pese a que se ha venido trabajando en dicho programa, es necesario considerar que éste busca cumplir su meta a largo plazo siguiendo los modelos de países más desarrollados. Sin embargo uno de los inconvenientes que encontramos con los propietarios es que dichas campañas no llegan a zonas rurales como las de este estudio. Por lo tanto este estudio demuestra también el incumplimiento del programa, ya que las zonas correspondientes al estudio declararon nunca haber sido visitadas por dichas campañas, un aspecto concordante con el estudio realizado por Zambrano (2016).

En comparación a Rio Verde, en Quinindé 3 de las fincas resultaron ser positivas. Adicionalmente en esta zona se pudo comprobar por medio de los propietarios que las campañas de vacunación han visitado al menos una vez sus respectivas zonas. Esto demuestra la eficacia de una de las estrategias de control como lo es la vacunación (Escobar, 2011), ya que aquellas fincas negativas estaban relacionadas a zonas que tuvieron acceso al programa. Por lo que una de las soluciones podría radicar en contratar mayor número de personal que se enfoque precisamente en zonas de difícil acceso. Es importante considerar que la vacunación juega un papel primordial en el control de la enfermedad porque permite su prevención, limita su difusión y por consiguiente reducen el impacto económico (Zambrano, 2016). El programa sugiere la vacunación a terneras de 4 a 6 meses de edad, existiendo dos tipos de vacunas en la actualidad, la Cepa 19 y la RB51. De estas, el programa de control de la enfermedad trabaja con la Cepa 19 para la inmunización de los bovinos en ganaderías extensivas, la cual se debe aplicar a bovinos de 4 a 8 meses como máximo (Escobar, 2011). La ventaja de esta vacuna es su mayor resistencia frente a desafíos de la enfermedad manteniendo títulos altos por largos periodos, y puede usarse en animales adultos con dosis bajas. Sin embargo se debe considerar que puede existir persistencia de los títulos de anticuerpos incluso después de los 24 meses, por lo que pruebas diagnósticas resultarían falsas (Peniche, et.al. 2009). La razón por la que no se trabaja con la RB51 es la necesidad de una revacunación en la pubertad de los bovinos para

mantener una buena inmunidad, resultando aún más difícil cumplir este aspecto al realizar campañas. Con esta información, se comprueba que el problema radica en que dichas campañas de vacunación no llegan a todas las zonas del Ecuador, siendo un ejemplo la diferencia en la prevalencia entre Quinindé y Rio Verde.

Los esfuerzos para el control de la enfermedad deben estar basados en la detección y la prevención, ya que ningún tratamiento se considera viable para la enfermedad (Llaguno, 2015). La detección oportuna de la enfermedad es punto clave para la erradicación de la enfermedad en un predio. En cuanto a la detección, siguiendo el modelo de la OIE, este debería ser realizado dos veces por año usando al menos una prueba tamiz como Rosa de Bengala, sin embargo en zonas rurales esta estrategia es nula, y mucho menos las pruebas de carácter confirmatorio que son de mayor costo. Es precisamente en este aspecto en donde el gobierno del Ecuador debería trabajar incluyendo a instituciones de educación superior como Universidades que puedan realizar estudios similares al presentado en este trabajo. De esta manera se podría determinar el estatus sanitario de diferentes zonas y poder cubrir poco a poco todas las regiones del país. Con este punto de partida, se podría definir estrategias y calendarios específicos que se ajusten a cada explotación; siempre incluyendo a médicos veterinarios para interpretar los resultados obtenidos y aplicar las estrategias del programa.

El presente estudio toma importancia ya que brinda datos actualizados que podrían convertirse en herramientas para los órganos reguladores, autoridades y los mismos ganaderos para modificar las estrategias aplicadas en el programa de control de brucelosis para zonas pertenecientes a Esmeraldas. Pese a que este estudio no podría hacer inferencia a toda la provincia de Esmeraldas, resulta importante ya que forma parte de un estudio mucho más grande que abarca una mayor cantidad de zonas y que permitirá tener una idea más real de la provincia. Por lo que se recomendaría también que este tipo de estudios sigan siendo actualizados ya que pueden ser de mucha ayuda en estudios seroepidemiológicos a nivel de

campo. Además, se debería incentivar a que este tipo de estudios sean publicados en revistas científicas ya que al momento de realizar la sistematización de trabajos publicados se pudo comprobar que los únicos estudios reportado en revistas indexadas a nivel internacional ha sido realizado por Zambrano en 2015 y 2016, Rodríguez y sus colaboradores en 2015, Ron Roman y sus colaboradores en 2014; siendo los únicos con publicaciones completamente científica.

En aquellas fincas que dieron negativo para la enfermedad es importante tomar medidas de manejo adecuadas para evitar su ingreso. En primer lugar se recomendaría desarrollar un programa de capacitación en diferentes comunidades de los cantones para difundir información sobre la enfermedad y su efecto tanto en salud pública como en la producción. Dentro de las principales medidas preventivas que se recomendarían es la vigilancia periódica de los animales para una detección precoz de la enfermedad, introducción solo de animales provenientes de predios libres de la enfermedad o por mínimo hacer un periodo de cuarentena. Los ganaderos deben tener claro el manejo en cuanto a restos fetales, placenta, y la desinfección de áreas contaminadas. Esto sería incinerar los restos o bien tratarlos con cal viva y depositarlos en una fosa común. Un programa de vigilancia epidemiológica eficiente permitirá detectar de forma temprana la enfermedad y también mantener libre de la enfermedad aquellas fincas que ya lo sean. Hay que considerar que en este estudio existe un caso sospechoso en Rio Verde, con un valor de seropositividad cercano a rangos positivos. Considerando que el kit es altamente específico y sensible, se podría pensar que dicha muestra tenía una pobre distribución del anticuerpo en la muestra probablemente porque no fue correctamente homogenizada al momento de ser descongelada (IDEXX, 2010).

Finalmente, con los resultados obtenidos en esta investigación, se puede determinar que a nivel nacional existe todavía un largo camino para lograr el control de la enfermedad, y más aún para su completa erradicación. Actualmente no existen regiones o zonas completamente libres de la enfermedad en el país, pero si existen predios individuales que han recibido

certificación libre de brucelosis. Por ejemplo el Ministerio de Agricultura y Ganadería declara que el 2017 termina con 41 predios libres de brucelosis bovina en Loja (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018) y Zamora Chinchipe con 47 predios libres (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2017). Para esta certificación el diagnóstico mediante técnicas serológicas de alta sensibilidad como Elisa fueron un pilar fundamental, así como el cumplimiento de las normativas establecidas en el Programa de Control de Brucelosis. Específicamente en Esmeraldas la situación de brucelosis resulta preocupante porque dichos programas de control y diagnóstico no llegan a las zonas de mayor vulnerabilidad.

CONCLUSIONES

- La prevalencia obtenida en el estudio resultó ser más alta que la reportada por Moncayo en 2015, lo que indicaría que dicha información puede estar subestimada, que pudo haber un aumento de casos positivos a la enfermedad, o que la diferencia de prevalencia de un cantón a otro es significativa. Esto indica que se necesitan más estudios en la región para obtener un mayor número de datos en cuanto a prevalencias de diferentes zonas y poder inferir a la provincia de Esmeraldas de forma confiable.
- En el 90% de las fincas estudiadas se introducen los animales directamente de compras en ferias ganaderas sin ningún tipo de registro sanitario, lo que constituye uno de los principales factores de propagación y permanencia de la enfermedad en la zona.
- Desde el año 2000 hasta la actualidad existen alrededor de 40 estudios referentes a la Brucelosis Bovina en el Ecuador, en donde la mayoría corresponden a tesis de grado de diferentes instituciones universitarias con una limitada distribución, y únicamente 3 trabajos han sido publicados en revistas científicas. De todos los estudios publicados apenas uno hace mención a Esmeraldas, demostrando la falta de información sobre una de las provincias más importantes dedicadas a la producción de subproductos animales después de Manabí. Además queda demostrado mediante la sistematización de información realizada, que no existen suficientes datos confiables para establecer prevalencias confiables de diferentes zonas del país.
- El presente estudio demuestra un deficiente cumplimiento del programa ya que únicamente algunas parroquias del cantón Quinindé han tenido acceso al Programa de Control de Brucelosis, mientras que la mayoría nunca se ha visto beneficiado por este. Por otro lado todas las fincas muestreadas en Rio Verde nunca habían sido visitadas por el programa de control de brucelosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acha P, Szyfres B. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 3ra ed. Vol 1. *Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica*. 580, 28-56.

AGROCALIDAD. (2016). Toma y envío de muestras en animales domésticos. *Laboratorios de la dirección de sanidad animal*, (3), 7-25. Recuperado de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/09/instructivo-toma-y-envio-de-muestras-en-animales-domesticos-19-01-2017.pdf>

AGROCALIDAD. (2017). Instructivo para "Toma de muestras de leche cruda". *Laboratorio de control de calidad de leche*, (4) 6-14. Recuperado de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/laboratorios/control-calidad-leche/instructivo-toma-de-muestra-leche-cruda-laboratorios-agrocalidad.pdf>

AGROCALIDAD. (2016). Manuela de procedimientos para la atención y control de Brucelosis Bovina en el Ecuador. *Laboratorios de la dirección de sanidad animal*. Recuperado de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu166490anx.pdf>

AGROCALIDAD. (2009). Programa nacional de control de brucelosis bovina. Resolución Sanitaria No. 025. Ecuador. 2009. Recuperado de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/sanidad-animal/02-control-zoosanitario/Resoluci%C3%B3n%20025.pdf>

Agurto, D. & Fernandez, P. (2013). *Prevalencia de Brucelosis Bovina en le Parroquia Ingapirca, Cantón Cañar, Provincia Cañar* (Tesis de grado, Universidad de Cuenca). Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/415/1/tesis.pdf>

- Andrade, D. (2016). *Situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas* (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5350/1/17T1383.pdf>
- Ayala, B. & Tobar, O. (2011). *Incidencia de Brucelosis bovina. Brucella abortus en los hatos lecheros de la Asociación Rancheros del Norte, Parroquia El Carmelo, Cantón Tulcán, Provincia del Carchi* (Tesis de grado, Universidad Politécnica Estatal de Carchi) Recuperado <http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/35/2/171%20ARTICULO%20CIENTIFICO.pdf>
- Ballen, L. & Ormaza, D. (2009). *Determinación de brucelosis mediante pruebas en placa y contra muestra con ELISA indirecto en el ganado bovino del Cantón Bolívar en el invierno* (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí). Recuperado de <http://repositorio.esPAM.edu.ec/xmlui/handle/123456789/399>
- Barros, C. (2015). *Determinación del índice de prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Naranjal provincia del Guayas* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala). Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1546/7/CD551_TESIS.pdf
- Benítez, M. (2013). *DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS (Brucella) BOVINA (Bóvidos) MEDIANTE ANIGEN RAPID B. BRUCELLA AB. TEST KIT EN VACAS LECHERAS DEL CAMAL MUNICIPAL DEL CANTÓN AMBATO DE LA PROVINCIA DEL TUNGURAHUA* (Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato). Recuperado de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8251/1/Tesis%2022%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20299.pdf>

Blasco J. (2002). *Brucelosis animal: la enfermedad y medidas para su control y erradicación.*

Manual de brucelosis. España: Junta de Castilla y León. 31-43.

Bustamante, U. (2009). *Incidencia de brucelosis bovina en el cantón Santa Ana de la provincia de Manabí.* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Babahoyo).

Recuperado de

<http://dspace.utb.edu.ec/inicio/bitstream/123456789/628/11/tesis%20bustamante.doc>

Cabrera, V. & Cárdenas, M. (2013). *Prevalencia de brucelosis bovina en el Cantón Limón Indanza Provincia Morona Santiago* (Tesis de grado, Universidad de Cuenca).

Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/413/1/TESIS.pdf>

Caisaguano, G. (2013). *Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina (Brucella abortus) en la provincia de Manabí mediante la prueba de la rosa bengala* (Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo). Recuperado de

<http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/515/1/T-UTEQ-0065.pdf>

Caisaguano, G. (2013). *Incidencia de brucelosis bovina (Brucella abortus) en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas* (Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo). Recuperado de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/562/1/T-UTEQ-0104.pdf>

Calderón, I. (2012). *Prevalencia de brucelosis en haciendas ganaderas lecheras y plantas de faenamiento en la provincia de Imbabura* (Tesis de grado, Universidad de las Américas). Recuperado de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2862>

Carbonero, A.; Guzmán, L.; García-Bocanegra, I.; Borge, C.; Adaszek, L.; Arenas, A.; Saa, L. (2018). Seroprevalence and risk factors associated with *Brucella* seropositivity in

dairy and mixed cattle herds from Ecuador. *Tropical Animal Health Production* 50(1), 197-203.

Carlosama, 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). Recuperado

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2522/1/T-UCE-0014-53.pdf>

Castro, H., González, S., & Prat, M. (Junio de 2005). Brucelosis: una revisión práctica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(2), 1-14.

Climate-Data.Org. (2014). Clima: Esmeraldas. Recuperado de <https://es.climate-data.org/location/2961/>

Cuenca, D. (2013). *Estudio epidemiológico de brucelosis humana y animal en la Hacienda San Antonio, ESPE Santo Domingo* (Tesis de grado, Universidad de las fuerzas armadas ESPE). Recuperado de

<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6904/1/T-ESPE-002485.pdf>

Cuenca, M. (2012). *Prevalencia de brucelosis bovina en la parroquia Huertas del cantón Zaruma provincia de El Oro* (Tesis de grado, Universidad Nacional de Loja).

Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/5395>

Díaz, R. & Lamiña, F. (2013). *Determinación de la seroprevalencia y análisis de factores de riesgo de brucelosis en bovinos, en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro* (Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador). Recuperado de

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2669/3/T-UCE-0014-43.pdf>

- D' Pool, G., S. Rivera, T. Torres, M. Pérez, A. García, O. Castejón, N. Rojas. (2004).
Prevalencia de Brucelosis Bovina mediante ELISA Competitivo en el municipio La
Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 14(2).
168-176.
- 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).
Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2247/1/17T1155.pdf>
- Espinoza, P. (2010). *Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Gualaquiza, Provincia
de Morona Santiago* (Tesis de grado, Universidad de Cuenca). Recuperado de
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3020/1/tv192.pdf>
- Espinosa, J. (2011). *Evaluación de la incidencia de brucelosis bovina de las haciendas “El
Prado” y “Aychapicho”, localizadas en la provincia de Pichincha-Ecuador,
mediante aplicación de técnicas inmunodiagnósticas*. (Tesis de grado, Universidad de
las Américas). Recuperado de [http://200.24.220.94/bitstream/33000/2811/1/UDLA-
EC-TMVZ-2011-15%28S%29.pdf](http://200.24.220.94/bitstream/33000/2811/1/UDLA-
EC-TMVZ-2011-15%28S%29.pdf)
- Flor, S. (2015). *PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE BRUCELOSIS BOVINA EN
GANADERÍAS DE LA ISLA PUNÁ, 2012. PROPUESTA Y MEDIDAS DE
PREVENCIÓN*. (Tesis de masterado, Universidad de Guayaquil). Recuperado de
[http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7077/1/FLOR%20ALVAREZ%20SILVI
A%20ILIANA.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7077/1/FLOR%20ALVAREZ%20SILVI
A%20ILIANA.pdf)
- ICA. (s.f.). Toma y envío de muestras de brucelosis para envío a laboratorio. Sistema de
gestión de la calidad, 3-7. Recuperado de :

<http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Publicaciones/2015/Toma%20y%20Envio%20de%20Muestras-Dx-Brucelosis.pdf>

IDEXX. (2010). ELISA Technical Guide. Laboratories, Inc. Estados Unidos. 1-18.

Recuperado de http://al.idexx.com/pdf/es_es/livestock-poultry/elisa-technical-guide.pdf

Instituto Nacional de Estadísticas y Censo. (2016). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continúa ESPAC 2016. Quito, Ecuador. 1-52.

Jaramillo, V. & Yopez, C. (2013). *Determinación de seroprevalencia de Brucelosis ovina en la provincia de pastaza y posibles factores de riesgo asociados con la enfermedad.*

(Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador). Recuperado de

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3127/1/T-UCE-0014-54.pdf>

Llaguno, Gonzalo. (2015). *Brucelosis, presencia en vacas (2 a 6 años) mediante Card-Test, en tres haciendas, Rcto. Pedernales, cantón Pedernales, Provincia de Manabí* (Tesis de Grado, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil). Recuperado de

<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/3869/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-3.pdf>

Maldonado, J., Kowalski, A., Milla, M., Verde, O., Alvarado, J., y otros. (2012). Estudio comparativo de las pruebas de Rosa de Bengala y Elisa competitivo para el diagnóstico de brucelosis en rebaños doble propósito del estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 30 (2), 135-.145.

Mariño-Jannaut, O. (2000). Brucelosis: metodologías diagnósticas e interpretación de resultados. *Medicina veterinaria y zootecnia*, 5(1), 57-60.

- McGiven, J., J. Tucker, J. Perrett, S. Stack, A. Brew M. (2003). Validation of FPA and cELISA for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in cattle sera and comparison to SAT, CFT, and iELISA. *Journal of Immunological Methods*. 278 (1-2). 171 – 8.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (2018). Loja tiene 41 predios libres de brucelosis y tuberculosis bovina. Recuperado de <http://www.agricultura.gob.ec/loja-tiene-41-predios-libres-de-brucelosis-y-tuberculosis-bovina-2/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (2017). Agrocalidad certificó a 47 predios de Zamora Chinchipe. Recuperado de <http://www.agricultura.gob.ec/agrocalidad-certifico-a-47-predios-de-zamora-chinchipe/>
- Moncayo, J. (2015). *Prevalencia de brucelosis bovina (Brucella abortus) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas* (Tesis de grado, Universidad Estatal de Quevedo). Recuperado de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1504/1/T-UTEQ-0167.pdf>
- Muñoz, M. (2018). PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACION DE BRUCELOSIS BOVINA PRESENTADO POR ESPAÑA PARA COFINANCIACIÓN 2018. Ministerio De Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Recuperado de http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pnebb_2018_tcm7-476316.pdf
- Narváez, M. (2014). “PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN GANADO BOVINO DE LA PARROQUIA SALINAS DEL CANTÓN GUARANDA PROVINCIA BOLÍVAR” (Tesis de grado, Universidad Estatal de Bolívar). Recuperado de <http://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/727/1/0.38.pdf>

- 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-Cayambre-2012* (Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana). Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4765/6/UPS-YT00155.pdf>
- Nicola, Ana; Sebastián, Elena. (2009). Manual de diagnóstico serológico de la Brucelosis Bovina. *OIE, SENASA*. 27-30.
- OIE. (2011). Código Sanitario para los Animales Terrestres. Volumen I. Recuperado de <https://www.oie.int/doc/ged/D11107.PDF>
- OIE. (2015). Infección por *Brucella abortus*, *B. mellitensis* y *B. suis*. Código Sanitario para los animales terrestres. Recuperado de http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_bovine_brucellosis.htm
- Ortega, J. (2014). *Determinación del índice de prevalencia de la brucelosis en el cantón Piñas, Provincia de El Oro* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala). Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1539/7/CD545_TESIS.pdf
- Ortega, T. (2015). *Seroprevalencia, aislamiento y biotipificación de Brucella spp., de bovinos faenados en dos camales de la provincia de Pichincha* (Tesis de grado, Universidad Central de Ecuador). Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6781/1/T-UCE-0014-046.pdf>
- Paredes, S. (2012). *Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, Recinito Cristal de Lelia* (Tesis de grado, Escuela Politécnica

del Ejército Santo Domingo). Recuperado de
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5566/1/T-ESPE-IASA%20II%20-%20002457.pdf>

Peniche, C., Martínez, H., Barradas, P., Franco, Z., Molina, S., Gutiérrez, R., Williams, J., Morales, A. & Flores, C. (2009). EVALUACIÓN EN CAMPO DE LA EFICACIA VACUNAL DE LAS CEPAS RB51 Y S19 DE *Brucella abortus* EN HATOS NATURALMENTE INFECTADOS CON BRUCELOSIS EN CLIMA TROPICAL. *Avances en la Investigación Agrícola, Pecuaria*. 371-381

Pozo, M. & Noroña, E. (2011). *DETERMINACION DE BRUCELOSIS BOVINA (Brucella abortus) CON LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN LA ASOCIACION "UNION LIBRE" DE LA PARROQUIA 10 DE AGOSTO PROVINCIA DE PASTAZA* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi). Recuperado de
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/842/1/T-UTC-1193.pdf>

Rivera, A., Rueda, O., Calderon, C., Mariño, O., Gall, D. & Nielsen, K. (2003). Evaluación comparativa del método inmunoenzimático indirecto en leche para la detección de bovinos infectados con *Brucella abortus*, en hatos del departamento de Cundimarca, Colombia. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*, 22(3), 1065-1075.

Rodríguez, G. (2003). *Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Antrax en los Bovinos Faenados en los Camales de El Empalme, Pichincha y Quevedo desde 2001 a 2003* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Manabí). Recuperado de
<http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3771/6/iniaptpM116p.PDF>

- Rodríguez, R., Contreras, J., Benítez, W., Guerrero, K., Salcán, H., Minda, E., Ron, L. (2015). Circulating Strains of *Brucella abortus* in Cattle in Santo Domingo De Los Tsáchilas Province – Ecuador. *Front Public Health*, 45 (3), 1-5.
- Ron-Roman, J. (2003). *Validación de técnicas diagnósticas para la detección de brucelosis y estudio epidemiológico en una región Andina del Ecuador*. (Tesis de Masterado, Amberes-Bélgica: Instituto de medicina Tropical Prince Leopold). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/269929264_Validacion_de_tecnicas_diagnosticas_para_la_deteccion_de_brucelosis_y_estudio_epidemiologico_en_una_region_andina_del_Ecuador?ev=auth_pub
- Ron-Roman, J., Ron-Garrido, L., Abatih, E., Celi-Erzaso, M., Vizcaíno, L., Calva, J., Gonzáles, P., Berkens, D., Benítez, W., Brandt, J., Fretin, D. & Saegerman, C. (2014). Human brucellosis in northwest Ecuador: typifying *Brucella* spp., seroprevalence, and associated risk factors. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 14(2)
- SAG. (2014). Ficha técnica - Brucelosis bovina. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. Recuperado de https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_bb.pdf
- Sánchez, C. (2012). *Prevalencia de Brucelosis bovina mediante el método Card-Test (Rosa de Bengala) en la comunidad de Pesillo Cayambe-Ecuador*. (Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito). Recuperado de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3702/6/UPS-YT00126.pdf>
- Tituaña, M. (2014). *Prevalencia de Brucelosis Bovina en fincas ganaderas del cantón Zaruma* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala). Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1530/7/CD539_TESIS.pdf

- Torres, J. (2015). *Índice de prevalencia de Brucelosis bovina en el cantón Las Lajas, provincia de El Oro* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala). Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1551/7/CD552_TESIS.pdf
- Vanzini, V., Aguirre, N., Lugaresi, C., Echaide, S., Canavesio, V., Guglielmone, A., Nielsen, K. (1998). Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in dairy cattle in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 36(3), 211-217.
- Ventocilla, S., Delgado, A., Rivera, H. & Evaristo, R. (2009). Seroprevalencia de *Brucella* spp. en bovinos del distrito de Tarma, Junín. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 20(2), 345-349.
- Vera, R. (2013). *INCIDENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (Brucella abortus) EN EL CANTON PICHINCHA, PROVINCIA DE MANABÍ* (Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo). Recuperado de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/539/1/T-UTEQ-0118.pdf>
- Villamar, Y. (2014). *Prevalencia de brucelosis bovina en fincas ganaderas del cantón Pasaje* (Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala). Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1529/7/CD538_TESIS.pdf
- Zambrano, M., & Pérez, M. (2015). Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista Salud Animal*, 37(3), 164-172.
- Zambrano, M., Pérez, M., & Rodríguez, X. (2016). Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(3) 607-617.

Zambrano, M. (2016). *Estudio Epidemiológico de brucelosis bovina en la provincia Manabí,*

Ecuador (Tesis de doctorado, Universidad Agraria de la Habana). Recuperado de

beduniv.reduniv.edu.cu/fetch.php?data=1580&type=pdf&id=1585&db=1

ANEXO A. SISTEMATIZACIÓN DE TRABAJOS REALIZADOS SOBRE BRUCELOSIS BOVINA

ESTUDIO	AUTORES	AÑO	ZONA GEOGRAFICA	ANALISIS APLICADO	PREVALENCIA	ENTIDAD	TIPO DE PUBLICACION
Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo	Marina Dalila Zambrano Aguayo, Miguel Pérez Ruano, Ximena Rodríguez Villafuerte	2016	Costa (Manabí)	Rosa de Bengala, Elisa-C	prevalencia: 2,19%	Revista Scielo	Publicación en Revista científica
Situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas	Darío Fabián Andrade Andrade	2016	Costa (Santo Domingo de los Tsáchilas)	Rosa de Bengala, Elisa-C	Por fincas: 1,56% Por animales: 0,028%	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo	Tesis de Grado
Estudio Epidemiológico de brucelosis bovina en la provincia Manabí, Ecuador	Marina Dalia Zambrano Aguayo	2016	Costa (Manabí)	Metanálisis: Rosa de Bengala, ELISA-C, Milk Ring Test Experimental: Rosa de Bengala, Elisa-C	Revisión sistemática: Costa: 1,96% Sierra: 1,74% Amazonia: 0,52% Prevalencia experimental: Fincas: 11,90% Mataderos: 2,63% Individual: 2,31%	Universidad Agraria de la Habana	Tesis de Doctorado
Prevalencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) mediante la prueba rosa de bengala en los cantones (Eloy Alfaro, Muisne y Esmeraldas) de la provincia de Esmeraldas	Jose Manuel Moncayo Castro	2015	Costa (Esmeraldas)	Rosa de bengala	Prevalencia: 18,33%	Universidad Estatal de Quevedo	Tesis de grado

Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador	Marina Dalia Zambrano Aguayo, Miguel Pérez Ruano	2015	Costa (Manabí)	Rosa de Bengala, Elisa-C	Bovinos: 2,33% Humanos: 1,06%	Revista Scielo	Publicación en revista científica
Seroprevalencia, aislamiento y biotipificación de <i>Brucella spp.</i> , de bovinos faenados en dos camales de la provincia de Pichincha	Tania Alexandra Ortega Sierra	2015	Sierra (Pichincha)	Rosa de Bengala, SAT-EDTA	Rosa de Bengala: 5,98% SAT-EDTA: 7,30%	Universidad Central del Ecuador	Tesis de Grado
Determinación del índice de prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Naranjal provincia del Guayas	Carlos Ivan Barros Morales	2015	Costa (Guayas)	Rosa de Bengala	Prevalencia: 0%	Universidad Técnica de Machala	Tesis de Grado
Prevalencia y factores de riesgo de brucelosis bovina en ganaderías de la Isla Puná, 2012. Propuesta y medidas de prevención.	Silvia Silvana Flor Álvarez	2015	Costa (Guayas)	Rosa de bengala	Prevalencia 0%	Universidad de Guayaquil	Tesis de Masterado
Índice de prevalencia de Brucelosis bovina en el cantón Las Lajas, provincia de El Oro	Julio Cesar Torres Freire	2015	Costa (El Oro)	Rosa de Bengala, Elisa-C	Prevalencia 0%	Universidad Técnica de Machala	Tesis de Grado
Circulating Strains of <i>Brucella abortus</i> in Cattle in Santo Domingo De Los Tsáchilas Province – Ecuador	Rodríguez Hidalgo R, Contreras Zamora J, Benítez Ortiz W, Guerrero Viracocha K, Salcán Guamán H, Minda E, Ron Garrido L.	2015	Costa (Santo Domingo de los Tsáchilas)	Rosa de Bengala, SAT -EDTA, PCR y AMOS-PCR, crecimiento en medio de Farrel	Prevalencia: 7,62%	Revistas NCBI	Publicación en revista científica
“Prevalencia de brucelosis en ganado bovino de la parroquia Salinas del cantón Guaranda provincia Bolívar”	Maria Cecilia Narváez Chango	2014	Sierra (Bolívar)	Rosa de Bengala, Elisa-C	Prevalencia: 0%	Universidad Estatal de Bolívar	Tesis de grado
Prevalencia de brucelosis bovina en fincas ganaderas del cantón Pasaje	Yamil Antonio Villamar Martínez	2014	Costa (El Oro)	Rosa de bengala	Prevalencia: 0%	Universidad Técnica de Machala	tesis de Grado

Prevalencia de brucelosis bovina en fincas ganaderas del cantón Zaruma	Max Lenin Tituaña Orellana	2014	Costa (El Oro)	Rosa de Bengala	Prevalencia 0%	Universidad Técnica de Machala	Tesis de grado
Determinación del índice de prevalencia de la brucelosis en el cantón Piñas, Provincia de El Oro	Juan Carlos Ortega Chamba	2014	Costa (El Oro)	Rosa de Bengala	Prevalencia: 0%	Universidad Técnica de Machala	Tesis de Grado
Diagnóstico de brucelosis (<i>Brucella</i>) bovina (Bóvidos) mediante “ANIGEN RAPID B. BRUCELLA AB. TEST KIT” en vacas lecheras del camal municipal del cantón Ambato de la provincia del Tungurahua	María José Benítez Gonzales	2013	Sierra (Tungurahua)	Anigen Rapid B. Brucella AB. Test Kit	Prevalencia: 0%	Universidad Técnica de Ambato	Tesis de grado
Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) en la provincia de Manabí mediante la prueba de la rosa bengala.	Arias Caisaguano	2013	Costa (Manabí)	Rosa de bengala	Prevalencia: 29,33%	Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Tesis de Grado
Incidencia de brucelosis bovina (<i>Brucella abortus</i>) en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas	Arias Caisaguano, Gustavo Ulices	2013	Costa (Santo Domingo de los Tsáchilas)	Rosa de Bengala, PCR	29%	Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Tesis de Grado
Estudio epidemiológico de brucelosis humana y animal en la Hacienda San Antonio, ESPE Santo Domingo.	Diego Marcelo Cuenca Jaramillo	2013	Costa (Santo Domingo de los Tsáchilas)	Rosa de Benngala, SAT-EDTA	Prevalencia 0,5%	Universidad de las fuerzas armadas ESPE	Tesis de grado
Determinación de la seroprevalencia y análisis de factores de riesgo de brucelosis en bovinos, en las provincias de Zamora Chinchipe, Loja y El Oro	Raúl Efrén Díaz Albuja, Oscar Fabián Lamiña Juiña	2013	Sierra, Costa, Amazonia (Loja, El Oro, Zamora Chinchipe)	Rosa de Bengala, SAT-EDTA	El Oro: 3,91% Zamora Chinchipe: 0% Loja: 0%	Universidad Central del Ecuador	Tesis de Grado

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-Cayambre-2012	Milton Medardo Neppas Túqueres	2013	Sierra (Pichincha)	Ring Test, Rosa de Bengala, Elisa-c	Ring Test: 21,4%, Rosa de Bengala: 12,1% Elisa-C : 8,9% Ring Test por animal: 23,2% Rosa de Bengala por animal: 4,6 % Elisa-C por animal: 3,26%	Universidad Politécnica Salesiana	Tesis de Grado
Determinación de seroprevalencia de Brucelosis ovina en la provincia de Pastaza y posibles factores de riesgo asociados con la enfermedad	Vanessa Alejandra Jaramillo Benavides, Cristina Vanessa Yépez Jacome	2013	Amazonía (Pastaza)	Rosa de Bengala, SAT-EDTA	Por finca: 3,4% Por animal: 1,04%	Universidad Central del Ecuador	Tesis de Grado
Prevalencia de Brucelosis Bovina en le Parroquia Ingapirca, Cantón Cañar, Provincia Cañar	Diego Alonso Agurto Granda, Pedro Ismael Fernández Panjón	2013	Sierra (Cañar)	Rosa de Bengala, Elisa-C	0,02%	Universidad de Cuenca	Tesis de Grado
Prevalencia de brucelosis bovina en el Cantón Limón Indanza Provincia Morona Santiago	Verónica Ximena Cabrera Tenecela, Marcelo Ramiro Cárdenas Peláez	2013	Amazonía (Morona Santiago)	Rosa de Bengala, Elisa-C	Prevalencia: 0%	Universidad de Cuenca	Tesis de Grado
INCIDENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA (<i>Brucella abortus</i>) EN EL CANTON PICHINCHA, PROVINCIA DE MANABÍ”	Rubén Darío Vera Ganchozo	2013	Costa (Manabí)	Rosa de Bengala, PCR	Rosa de bengala: 22% PCR: 9,67%	Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Tesis de grado
Aislamiento y biotipificación de <i>Brucella spp.</i> De reservorios animales seropositivos en el centro de faenamiento de Tulcán	Marlon Hernán Carlosama Yépez	2013	Sierra (Carchi)	Rosa de Bengala, SAT-EDTA	Prevalencia: 3,91%	Universidad Central del Ecuador	Tesis de Grado
Prevalencia de brucelosis bovina mediante el método Card-Test (Rosa de Bengala) en la comunidad de Pesillo Cayambre-Ecuador	Carmen Alezandra Sánchez Peña	2012	Sierra (Pichincha)	Rosa de Bengala, Elisa	2,18%	Universidad Politécnica Salesiana	Tesis de Grado

Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, Recinito Cristal de Lelia	Sergio Ramón Paredes Vargas	2012	Costa (Santo Domingo de los Tsáchilas)	Rosa de Bengala, Milk Ring Test, SAT-EDTA	Prevalencia por finca: 5,26% Prevalencia en animales: 0,19%	Escuela Politécnica del Ejercito - Santo Domingo	Tesis de Grado
Prevalencia de brucelosis bovina en la parroquia Huertas del cantón Zaruma provincia de El Oro	Cuenca Velasco Mauricio David	2012	Costa (El Oro)	Rosa de bengala, SAP	prevalencia: 0%	Universidad Nacional de Loja	tesis de Grado
Prevalencia de brucelosis en haciendas ganaderas lecheras y plantas de faenamiento en la provincia de Imbabura	Isabel Cristina Calderón Yépez	2012	Sierra (Imbabura)	Rosa de Bengala	Prevalencia: 1,15%	Universidad de las Américas	Tesis de Grado
Evaluación de la incidencia de brucelosis bovina de las haciendas "El Prado" y "Aychapicho", localizadas en la provincia de Pichincha-Ecuador, mediante aplicación de técnicas inmunodiagnósticas	Jose Luis Espinoza Benítez	2011	Sierra (Pichincha)	Rosa de Bengala y SAT-EDTA	Prevalencia 18,83% Incidencia: 4,95%	Universidad de las Américas	Tesis de grado
Incidencia-Prevalencia y plan de control de brucelosis bovina en hatos lecheros de la sierra norte ecuatoriana	Francisco Daniel Escobar Iglesias	2011	Sierra (Carchi, Imbabura, Pichincha)	Rosa de Bengala	Carchi: 8,52% Imbabura: 0,75% Pichincha: 0,36%	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo	Tesis de Grado
DETERMINACION DE BRUCELOSIS BOVINA (<i>Brucella abortus</i>) CON LA PRUEBA ROSA DE BENGALA EN LA ASOCIACION "UNION LIBRE" DE LA PARROQUIA 10 DE AGOSTO PROVINCIA DE PASTAZA"	Maicol Dario Pozo Rosero, Gabriela Elizabeth Noroña Changoluisa	2011	Amazonía (Pastaza)	Rosa de Bengala	prevalencia 0%	Universidad Técnica de Cotopaxi	Tesis de grado
Incidencia de Brucelosis bovina. <i>Brucella abortus</i> en los hatos lecheros de la Asociación Rancheros del Norte, Parroquia El Carmelo, Cantón Tulcán, Provincia del Carchi	Ayala B.E.A, Tobar O.L.J	2011	Sierra (Carchi)	Rosa de Bengala, Elisa-C	1,54%	Universidad Politécnica Estatal de Carchi	Tesis de grado

Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Gualaquiza, Provincia de Morona Santiago	Pricila Espinoza Ortega	2010	Amazonía (Morona Santiago)	SAP	Cantonal: 2,22% El Ideal: 10% Gualaquiza: 8,5% Nueva Tarqui: 2,86%	Universidad de Cuenca	Tesis de Grado
Incidencia de brucelosis bovina en el cantón Santa Ana de la provincia de Manabí.	Bustamante U.G.A	2009	Costa (Manabí)	Rosa de Bengala	2,28%	Universidad Técnica de Babahoyo	Tesis de grado
Determinación de brucelosis mediante pruebas en placa y contra muestra con ELISA indirecto en el ganado bovino del Cantón Bolívar en el invierno.	Ballen L.D.E, Ormaza D.J.A	2009	Costa (Manabí)	Elisa-I, prueba rápida en placa	1,58%	Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí	Tesis de Grado
Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Ántrax en los Bovinos Faenados en los Camales de El Empalme, Pichincha y Quevedo desde 2001 a 2003	Geovany Macías Rodríguez	2003	Sierra (Guayas, Pichincha, Los Ríos)	Rosa de Bengala, Microaglutinación, observación macroscópica	El Empalme: 6,71% Pichincha: 8,33% Quevedo: 7,71%	Universidad Técnica de Manabí	Tesis de Grado

Fuente: La investigación

Elaborado por: El autor

ANEXO B: DENSIDAD OPTICA DE CADA MUESTRA DE LECHE A 450NM

Densidad obtenida a una longitud de onda de 450 nm mediante espectrofotómetro. El primer casillero representa al control negativo, y los dos casilleros siguientes representan a los controles negativos. El color amarillo representa las muestras correspondientes a Rio Verde, y el color azul representa a muestras de Quindé.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,117	0,916	0,868	0,312	0,301	0,294	0,088	0,237	4	0,167	0,391	0,099
B	1,909	0,384	0,393	0,571	0,479	2,699	2,728	3,014	0,568	4	0,587	0,401
C	0,604	0,419	0,122	0,19	0,322	2,49	0,815	4	0,234	4	0,246	0,096
D	0,178	0,083	0,16	0,448	4	4	0,163	4	4	0,855	0,329	4
E	0,305	0,402	4	0,531	4	0,227	0,581	4	4	0,591	0,296	1,366
F	4	0,17	0,871	0,309	0,289	0,321	4	0,464	0,262	4	4	4
G	0,576	4	2,883	0,484	0,786	4	0,155	4	0,32	1,072	4	0,137
H	0,122	0,126	0,112	0,095	0,118	0,119	0,093					

Fuente: La investigación

Elaborado por: El autor

ANEXO C: RESULTADOS OBTENIDOS PARA M/P% (PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD) DE CADA MUESTRA

Resultados obtenidos mediante fórmula establecida por Brucellosis Antibody Test Kit (Tank Milk). Casilleros amarillos indican reactores y casilleros azules indican no reactores.

Adicionalmente casilleros violetas indicarían resultados sospechosos según los criterios de interpretación proporcionados por el kit.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,00	103,10	96,90	25,16	23,74	22,84	-3,74	15,48	501,03	6,45	35,35	-2,32
B	231,23	34,45	35,61	58,58	46,71	333,16	336,90	373,81	58,19	501,03	60,65	36,65
C	62,84	38,97	0,65	9,42	26,45	306,19	90,06	501,03	15,10	501,03	16,65	-2,71
D	7,87	-4,39	5,55	42,71	501,03	501,03	5,94					
E												
F												
G												2,58
H	0,65	1,16	-0,65	-2,84	0,13	0,26	-3,10					

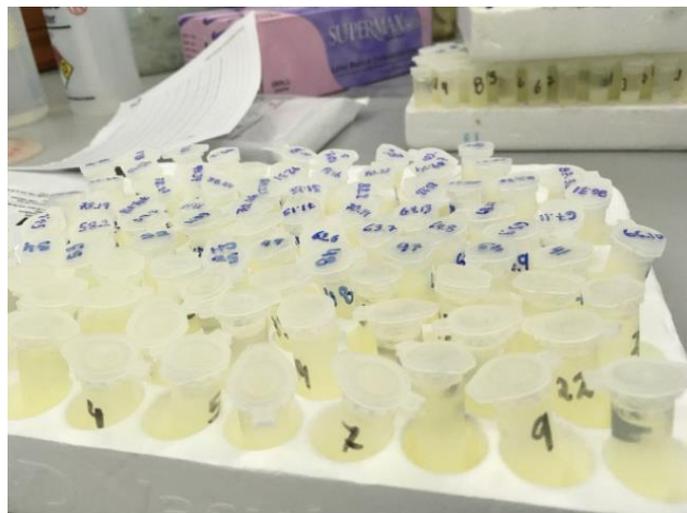
Fuente: La investigación

Elaborado por: El autor

ANEXO D. RECEPCIÓN DE MUESTRAS DE LECHE DE TANQUE EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL VETERINARIO DE LA UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO



ANEXO E. EXTRACCIÓN DE SUERO DE LECHE E IDENTIFICACIÓN CORRESPONDIENTE



ANEXO F. COLOCACIÓN DE CONTROLES POSITIVO, NEGATIVO, Y REACTIVOS EN LOS POSILLOS



ANEXO G. ADICIÓN DE LOS SUEROS DE LECHE EN LA PLACA



ANEXO H. EQUIPO QUE TRABAJÓ DURANTE EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SUERO DE LECHE POR ELISA INDIRECTO

Laboratorio de Entomología y Medicina tropical de la Universidad San Francisco de Quito-Ecuador 2017.

