

UNIVERSIDAD AMAZÓNICA DE PANDO
AREA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y NATURALES
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TESIS DE GRADO PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO
EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“DETERMINAR LA PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS EN EL
HATO BOVINO DEL PREDIO PALMA SECA EN EL MUNICIPIO
DE COBIJA DE PROVINCIA NICOLÁS SUAREZ DEL
DEPARTAMENTO DE PANDO”**

POSTULANTE: Carlos Alberto Burgos Achával

ASESORES: Ing. Elker Soria Roca

Dr. Mario Yasser Melgar Aguada

COBIJA-PANDO-BOLIVIA

2021

I

HOJA DE APROBACION

La siguiente tesis fue revisada y aprobada por:

CARGO	NOMBRES Y APELLIDOS	FIRMAS
Presidente	Lic. Nancy Acuña Álvarez
Tribunal 1	Dr. Benjamín Oliveira Carrillo
Tribunal 2	Dr. Sergio Velásquez Espíritu
Tribunal 3	Dr. Emilio Román Monasterio

II

DEDICATORIA

A mi señor, Jesús, quien me dio la Fe, la Fortaleza, la Salud y la esperanza para terminar mis estudios universitarios y el presente trabajo investigativo.

A mi abuelito Darío Burgos Aramayo y mis padres, Boris Alexis Burgos Tavera y Bárbara Mariela Achával Rivero, a mi abuela Juana Tavera de Burgos (+) porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por todo lo que han hecho de mí.

A mi hija, Bárbara Melissa Burgos Vargas, tíos, primos y amigos.

Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

III

AGRADECIMIENTO

De corazón a todos los docentes de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por todos los conocimientos impartidos desinteresadamente. De manera muy especial al Dr. Mario Yasser Melgar Aguada, y al Ing. Elker Soria Roca, Asesores de mi tesis, quienes me orientaron durante todo el proceso de esta investigación hasta su culminación y a mi tribunal de tesis igualmente les doy mis más sinceros agradecimientos por su ardua colaboración, a Dr. Benjamín Oliveira Carrillo, por brindarme conocimientos y apoyo en la Universidad.

IV

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el predio Palma Seca, ubicado en el municipio de Cobija, departamento Pando, se ejecutó durante los meses de noviembre y diciembre del 2020. Titulado: “DETERMINAR LA PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS EN EL HATO BOVINO DEL PREDIO PALMA SECA EN EL MUNICIPIO DE COBIJA DE PROVINCIA NICOLÁS SUAREZ DEL DEPARTAMENTO DE PANDO” se muestrearon 143 muestras de sangre obtenidas en el predio ganadero del predio Palma Seca, los métodos de envío empleados al laboratorio fueron del suero para diagnóstico, la prueba de rosa de bengala, que permite la expresión de resultados, a la cual 137 fueron negativos y 6 fueron positivos, se caracteriza por ser de alta sensibilidad y niveles bajos de especificidad, lo que quiere decir que se va a obtener resultados falsos negativos, pero en algunos casos falsos positivos, ya que puede producir reacciones cruzadas con otras bacterias; en esta prueba los resultados también fueron negativos, por lo que se consideró necesario solicitar a los Laboratorios LIDIVECO de la ciudad de Cochabamba, obteniéndose resultados positivos a Brucelosis Bovina. Prevalencia de Brucelosis en el Predio Palma Seca fue del 5.7 %, lo que nos indica que esta bacteria está presente en las ganaderías del predio.

Palabras claves: *prevalencia, sensibilidad, lidiveco.*

V

SUMMARY

The present research work was carried out in the Palma Seca farm located in the municipality of Cobija, department of Pando, said work was carried out during the months of November and December 2020 Entitled: “DETERMINING THE PREVALENCE OF BRUCELLOSIS IN THE BOVINE HERD OF THE PREMISES PALMA SECA IN THE MUNICIPALITY OF COBIJA IN THE NICOLÁS SUAREZ PROVINCE OF THE DEPARTMENT OF PANDO ”143 blood samples were sampled from the Palma Seca cattle farm, the shipping methods used to the laboratory were serum for diagnosis, the rose test from flare, which allows the expression of results, to which 137 were negative and 6 were positive., It is characterized by high sensitivity and low levels of specificity, which means that false negative results will be obtained, but in some false positive cases, as it can produce cross-reactions with other bacteria; In this test, the results were also negative, so it was considered necessary to request the LIDIVECO Laboratories of the city of Cochabamba, obtaining positive results for Bovine brucellosis, the prevalence of Brucellosis in the Palma Seca Estate was 5.7%, which indicates that This bacterium is present in the farms of the property.

Keywords: *prevalence, sensitivity, lidiveco.*

VI
INDICE

1. INTRODUCCIÓN	12
2. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. Brucelosis	15
2.2. Diagnóstico	18
2.2.1. <i>Diagnóstico Serológico</i>	18
2.2.2. <i>Diagnóstico de Laboratorio</i>	20
2.3. Diagnóstico diferencial	28
2.4. Inmunización de rebaños	28
2.5. Inmunidad de la brucelosis	30
2.5.1. <i>Inmunidad Natural</i>	30
2.5.2. <i>Inmunidad Artificial</i>	31
2.5.3. <i>Las Inmunoglobulinas en Brucelosis</i>	31
2.6. Justificación	37
3. OBJETIVOS.	38
4. MATERIALES Y MÉTODOS	38
4.1. Materiales	38
4.1.1. <i>Materiales de Campo</i>	38
4.1.2. <i>Materiales de Laboratorio</i>	39
4.1.3. <i>Materiales de Oficina</i>	39
4.2. Métodos	39
4.2.1. <i>Ubicación del Área de Estudio</i>	39
4.3. Metodología	40

4.3.1. <i>Variables en Estudio</i>	42
4.3.2. <i>Los focos endémicos de Brucelosis</i>	42
4.4. Métodos de Laboratorio	42
4.4.1. <i>Raza o cruce genético</i>	42
4.4.2. <i>Toma y Registros de Datos</i>	43
5. RESULTADOS	44
5.1. La prevalencia de brucelosis bovina en el predio Palma Seca.	44
5.2. Propuesta educativa y técnica para el control de brucelosis bovina al ganadero del predio Palma Seca	38
5.2.1. <i>Antecedentes</i>	38
6. DISCUSIÓN	39
7. CONCLUSIONES	41
8. RECOMENDACIONES	41
9. BIBLIOGRAFIA	42
10. ANEXOS	44

IX
INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidades de suero, antígeno y diámetros de la prueba de Huddleson	21
Tabla 2. Interpretación de los resultados de la prueba de Huddleson.	22
Tabla 3. Diagnóstico diferencial de la Brucelosis Bovina	28
Tabla 4. Porcentajes de la Prevalencia de Brucelosis Bovina en el predio Palma Seca	44
Tabla 5. Métodos de Laboratorio Rosa de Bengala	44
Tabla 6. Raza o cruce genético existente en el predio Palma Seca	35
Tabla 7. Número de animales que se muestrearon por sexo	36
Tabla 8. Edades de los animales muestreados.	36

X

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con cepa 19 entre 4 y 6 meses de edad	33
Figura 2. Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con la vacuna cepa 19 a los 8 meses de edad	33
Figura 3. Representación esquemática de los resultados de la prueba de seroaglutinación de algunas vacas infectadas de " hatos problema"	36
Figura 4. Predio Palma Seca	40
Figura 5. Porcentajes de la Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Método de Laboratorio Rosa de Bengala	35
Figura 6. Porcentajes de la raza o cruce genético existente en el predio Palma Seca	35
Figura 7. Edades en años de los animales muestreados.	37

1. INTRODUCCIÓN

La *Brucella abortus* está presente en todos los países de América central siendo la prevalencia de un 4 a 8%. En Sud América se encuentra en varios países.

La brucelosis también conocida como “Fiebre de Malta”, o “fiebre ondulante” en los humanos, y como “enfermedad de Bang” o “aborto contagioso”, en animales es una infección bacteriana altamente contagiosa causada por bacterias del género *Brucella*. (OIE, 2004).

La Brucelosis es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), como la zoonosis más persistente en todo el mundo, pertenece a la lista B, de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional. Posee una alta prevalencia en los llamados países en vías de desarrollo, donde las condiciones sanitarias son deficientes, los sistemas de explotación animal son de tipo tradicional, y no existen sistemas de seguimiento epidemiológico adecuado de la enfermedad (OIE, 2004).

Los animales son el principal reservorio de *Brucella spp* y pueden presentarse de forma asintomática o, manifestar una sintomatología que se traduce en abortos, infertilidad, esterilidad, muerte de terneros, disminución de la producción láctea, interrupción de programas de mejoramiento genético, depreciación de los animales enfermos y retraso del crecimiento.

En la actualidad esta zoonosis ha tomado mucha importancia en Salud Pública ya que, cada día hay reportes de personas que han contraído la enfermedad, y se estiman que a nivel mundial se producirían entre 400 y 500 mil nuevos casos (Alvarez, 2001).

En el campo el mayor inconveniente que tiene el pequeño, mediano y grande ganadero es el desconocimiento de las enfermedades reproductivas que afectan a su ganadería, conocimientos necesarios para poder llevar un manejo técnico del hato y establecer un sistema planificado, con la utilización de tecnología, con el fin de alcanzar los objetivos de productividad, rentabilidad y sustentabilidad en su sistema de producción.

La razón principal que hizo imprescindible investigar sobre la brucelosis es porque se transmite de los animales al ser humano (zoonosis), además el gran número de abortos,

nacimiento de crías débiles, disminución en la producción de leche, los cuales afectan directamente en la rentabilidad del productor ganadero.

Históricamente la presencia de la Brucelosis en el territorio boliviano causa problemas económicos a los productores, afectando la producción y productividad de la ganadería de carne, como de leche y desde el punto de vista de la salud pública son enfermedades zoonóticas de gran importancia.

En el ganado vacuno la brucelosis suele estar causada por biovariedades de *Brucella abortus*. Normalmente la enfermedad es asintomática en las hembras no gestantes. Después de la infección por *B. abortus* o por *B. melitensis*, las hembras adultas en gestación desarrollan una placentitis que, por lo general, provoca el aborto entre el quinto y el noveno mes de gestación. Incluso en ausencia de aborto se produce una gran excreción de microorganismos a través de la placenta, los líquidos fetales y los exudados vaginales. Las mamas y los ganglios linfáticos regionales también pueden infectarse y los microorganismos pueden aparecer en la leche. Las gestaciones posteriores llegan, por lo general, a término, pero la infección uterina y la mamaria se repiten, con un número reducido de microorganismos en los productos del parto y en la leche. En las infecciones agudas, el microorganismo está presente en la mayoría de los ganglios linfáticos. Los machos adultos pueden desarrollar orquitis, y la brucelosis puede causar la esterilidad en ambos sexos.

La brucelosis se transmite fácilmente al hombre y causa una enfermedad febril aguda – la fiebre ondulante – que puede convertirse en crónica y producir complicaciones graves que afectan a los músculos esqueléticos, al sistema cardiovascular y al sistema nervioso central. En las zonas en las que la enfermedad es endémica deben tomarse medidas para evitar la infección del hombre. A menudo la infección se debe a una exposición profesional y se adquiere por vía oral, respiratoria o conjuntival, pero el riesgo mayor para la población general es la ingestión de productos lácteos contaminados en las zonas en las que la enfermedad es endémica. Los veterinarios y los granjeros que manejan animales infectados, fetos abortados o placentas, están expuestos a ese riesgo laboral.

Con relación a la tuberculosis la pérdida directa resulta de las muertes de animales, pérdidas de ganancia de peso y disminución en la producción de leche, descarte precoz y eliminación de animales de alto valor genético, decomiso de las carcasas en el faeneo. Se estima que los animales infectados pierden de 10 a 20% de su eficiencia productiva, por otro lado, existe

perdida del prestigio y credibilidad de la unidad productiva donde fue detectada la enfermedad.

El PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL Y ERRADICACION DE BRUCELOSIS-TUBERCULOSIS BOVINA Y BUBALINA, cuyos lineamientos programáticos, forman parte en anexo a la presente resolución. En el Artículo Tercero, aprueba los REGLAMENTOS TECNICOS del Programa Brucelosis-Tuberculosis Bovina y Bubalina en sus XX capítulos.

MDRyT – SENASAG, Pando, junio de 2019.- Con el objetivo de Cumplir con el Programa Nacional de control y erradicación de la brucelosis y tuberculosis bovina y Bubalina, técnicos del SENASAG, entidad dependiente del Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras, ponen en marcha el estudio serológico para verificar la prevalencia de *brúcela abortus* en bovinos en predios lecheros y cabañeros del departamento Pando.

El responsable departamental del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria (SENASAG), informó que se realizó el sangrado de 1120 bovinos y se procedió al separado de suero sanguíneo centrifugando las muestras y codificando cada muestra en los viales para congelar y enviar a laboratorios donde realizara todas las pruebas correspondientes para su análisis de brucelosis, señaló que los resultados de laboratorio, será un documento que determinará que todo animal que resulte positivo a la prueba de laboratorio, está destinado a su eliminación, como el programa lo contempla.

La presencia de la brucelosis y tuberculosis, ocasiona problemas económicos a los productores, afectando a la producción ganadería, además de representar un peligro a la salud pública en determinados grupos de riesgo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Brucelosis

Blood y Henderson, 1992, Manifiestan que la brucelosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa ocasionada por la bacteria *Brucella abortus*, difundida en mayor o menor grado por algunos países de América latina y entre ellos Ecuador.

Los mismos autores expresan que la enfermedad ataca a bovinos de todas las edades, pero persiste con mayor frecuencia en animales sexualmente adultos, y presenta infección congénita en terneros nacidos de vacas infectadas. Otras especies animales como ovinas, caprinas, búfalos, porcinos y equinos también pueden contagiarse.

Sesa, 2005, indica que la brucelosis bovina también produce grandes pérdidas económicas estimadas en cinco millones de dólares al año debido principalmente a la disminución de la producción de leche, abortos de vacas y otros problemas de infertilidad.

Las pérdidas de terneros o dificultades en la crianza de los mismos, principalmente en las zonas destinadas a la producción de carne, donde los terneros representan una fuente de ingresos. La infertilidad de las vacas provoca a su vez el sacrificio de vacas infectadas, como consecuencia de retención placentaria, seguida de metritis aguda.

García, 1987, indica que hay ciertos factores que contribuyen a la presencia de abortos entre estos los factores inmunosupresores como la ingestión prolongada de toxinas fúngicas (micotoxinas) contribuye para que se produzcan abortos asociados a distintas etiologías. Además expresa que la ingestión de *Aflotoxinas* B1 y B2, y de ciertos *Tricótesenos* (toxinas derivadas de la ingestión de silos de maíz contaminado con *Aspergillus* o expeler de trigo por tricótesenos), producen una importante alteración en la presentación de los linfocitos periféricos; existe una modificación importante en la relación de los CD4 : CD8, elevando los supresores sobre los citotóxicos, de esta manera la inmunosupresión concomitante es inminente, la formación de anticuerpos contra los antígenos procesados por las células T está suprimida y el animal es más vulnerable.

Contreras, 1996, manifiesta que otros factores a tener en cuenta son las deficiencias de oligoelementos y vitaminas: Cu, Zn, Se, y Vit E y A que actúan como sustancias antioxidantes mejorando el status inmunitario de los bovinos. Es muy difícil lograr una buena inmunidad cuando existen factores inmunosupresores, fundamentalmente cuando el

hato a vacunar presenta cuadros de deficiencia nutricional ya sea cuantitativa o cualitativa. Se debe tener en cuenta que el aporte de Vit E, Se y Zn son de vital importancia para lograr un hato protegido.

Mariño, 1990, expresa que hay mecanismos y causas de abortos que sabemos por fisiología que en una preñez normal el feto es el que determina los cambios endócrinos que origina el desencadenamiento del parto, la enfermedad fetal y la muerte del mismo suprime el efecto positivo sobre el control del mantenimiento de la preñez, el aborto en definitiva es la interferencia de este mecanismo. Las causales del aborto son variadas e incluyen a la anoxia fetal, endotoxinas, toxinas, serotoninas, prostaglandinas, anafilaxis y factores inmunológicos.

Los mismos autores expresan que la placenta cumple roles fundamentales: el respiratorio, el nutricional, el renal; la reacción placentaria del patógeno está limitada a cambios circulatorios, (hiperemia, edema, hemorragia y trombosis), infiltración leucocitaria, (macrófagos placentarios) degeneración, necrosis, y fibrosis. La presencia de lesiones placentarias nos indica una infección intrauterina, de hecho es la placentitis la lesión más común en los abortos infecciosos. Por ello la presencia de la placenta es vital para un diagnóstico correcto.

Organización Mundial de la Salud, FAO/OMS, 1994, señala que hay ciertos factores que influyen en la muerte embrionaria tales como: nutrición, tanto las deficiencias como los excesos pueden influir en la muerte embrionaria, particularmente durante la implantación. El Stress Calórico, está claro que las altas temperaturas ambientales pueden disminuir la fertilidad, con una alta incidencia de muertes embrionarias antes de los 35 días. Diagnóstico de gestación temprano, es una causa de pérdida que afecta al embrión en su etapa tardía o al feto en su etapa temprana. En un estudio la pérdida fue del 2,82 %, no especificándose el momento del examen. En otra evaluación reportó un porcentaje de pérdidas del 9,5%, en vacas diagnosticadas preñadas en los días 42 a 46. La técnica incluía palpación del fluido fetal, identificación de la vesícula amniótica y deslizamiento de membrana. Un estudio realizado sobre 13.535 animales indica que la mortalidad embrionaria fue del 11,3%, y el 25% de éstas se distribuyeron entre los días 25 a 29 de la preñez, y un 8% entre los días 54 a 59.

Estas mismas instituciones señalan en el año 1997, que las pérdidas al parto incluyen los terneros que nacen muertos, los que mueren durante el parto y los que mueren en las horas

siguientes al nacimiento. En términos muy generales se puede considerar que del total de pérdidas de terneros en este período, el 75 % se producen al nacimiento y el 25 % restante entre el nacimiento y el destete.

También expresan con respecto al total de nacimientos para un hato constituido normalmente por edades se podría esperar 4 a 6% de mortandad al parto y entre 2 y 3% para el período 72 hs. postparto hasta el destete. Uno de los aspectos más desalentadores del estudio de estas pérdidas es el número prácticamente ilimitado de clasificaciones en que se agrupan estas, lo cual hace muy difícil la comparación entre los resultados y la evaluación.

Podemos clasificar las pérdidas en:

- Pérdidas fetales: Las pérdidas durante la vida intrauterina consideradas como normales en ésta etapa, varían entre un 2 a 4%, 2 a 5 %, 3 a 4%.
- Pérdidas durante el parto: La distocia es la causa más importante de mortalidad durante el parto en los terneros de carne. Las causas pueden ser tanto de origen maternal como fetal.
- Dentro de las maternas: área pélvica chica, fallas en la fuerza de expulsión (dilatación incompleta de cérvix y vagina e inercia uterina).
- Con respecto a las fetales: tamaño del ternero y disposición (presentación, posición, actitud). El problema principal consiste en el efecto frecuentemente largo de la hipoxia a la que está sometido el ternero. Entre el 50 y 60 % de las muertes que tienen lugar durante el parto suelen ir asociadas a complicaciones y duración excesiva de las mismas. La tasa de mortalidad es mayor en vacas jóvenes que en adultas.
- Pérdidas postparto: Se debe considerar que en nuestro país la edad de destete definitivo tradicionalmente es de 6 a 8 meses de edad, y que los porcentajes de establecimientos que no utilizan tecnologías como el destete precoz y temporario son del 80 %.

Durante las primeras 48 hs. siguientes al parto, las pérdidas encontradas pueden relacionarse a:

- Tamaño de los potreros (a mayor tamaño menor es la probabilidad de detectar animales problemas).
- Mala conducta de la madre (abandono del ternero, principalmente en vaquillonas)
- Onfalitis, poliartrosis y su complicación por miasis.

Alton y Sutherland, 1990, también se expresa que la repercusión socioeconómica de la brucelosis es grande en los países que no la han erradicado. El control y la erradicación de la brucelosis requiere el poner en ejecución en forma coordinada por lo menos las siguientes cuatro medidas: vacunación, diagnóstico, eliminación de reactores y vigilancia epidemiológica. Si una de estas acciones falla o solo se cumple parcialmente, la enfermedad permanece como problemática constante o emergente. Actualmente, se dispone de herramientas que permiten cumplir la primera acción mediante la aplicación reglamentaria de una vacuna, cepa 19 o cepa RB51, para la segunda se ha demostrado la utilidad y la eficacia de pruebas serológicas de alta sensibilidad y especificidad.

Las dos últimas medidas se encuentran reglamentadas apropiadamente, pero lo anterior requiere del trabajo compartido entre los productores y la autoridad sanitaria para reducir progresivamente la existencia de fuentes de infección hasta alcanzar las condiciones específicas para la fase de erradicación.

2.2. Diagnóstico

El diagnóstico de la Brucelosis se realiza mediante la utilización de distintos métodos, los que de acuerdo con las características de la enfermedad, permiten determinar la situación de la misma en el hombre, los animales y en el medio ambiente.

2.2.1. Diagnóstico Serológico

Dos factores deben ser tomados en consideración: tipo de antígenos y pruebas serológicas.

2.2.1.1. Tipo de antígenos

El género *Brucella* tiene una característica única entre las bacterias Gram negativas que es la de tener especies permanentemente rugosas (*B. ovis*, *B. canis*), junto con especies lisas (*B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*) y con mutantes rugosas derivadas de estas últimas.

Las especies en fase lisa presentan los siguientes antígenos.

- Lipopolisacárido liso (LPS) localizado en la superficie de la bacteria, siendo el principal antígeno frente al cual aparecen anticuerpos (IgM, IgG), tanto en los

animales vacunados como en los infectados.

- Polisacárido B (Poly B) que algunos llaman de Hapteno Nativo (HN), también localizado en la superficie. Los anticuerpos frente a este antígeno parecen depender de la intensidad del estímulo antigénico, puede ayudar en la diferenciación de vacunados e infectados.
- Proteínas de Membrana Externa (PME) y Citoplasmáticas (PC), aisladas y caracterizadas recientemente. Su función antigénica aún no está completamente esclarecida.

Las especies en fase rugosa presentan los siguientes antígenos.

- Lipopolisacárido rugoso (LPS-R) principal antígeno de la superficie de las brucelas rugosas. Se diferencia del LPS liso por una reducción en la proporción de polisacáridos de la cadena O.
- Proteínas de Membrana Externa (PME) y Citoplasmáticas (PC), su función es poco conocida.

2.2.1.2. Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas pueden ser clasificadas de acuerdo con el antígeno relacionado o de acuerdo con las clases y subclases de las inmunoglobulinas que intervienen.

a. Según el tipo de Antígeno

Lipopolisacárido (LPS)

- Suspensiones celulares íntegras

Seroaglutinación rápida, lenta, mercaptoetanol, antígeno acidificado tamponado

(Rosa de Bengala), rivanol, coombs. Fijación de complementos (FC) Ensayo inmunoenzimático (ELISA) ELISA de Competición (Con Elisa) Hemoaglutinación indirecta (HI) Contra inmunoelectroforesis (CIE)

- Haptenos nativos Inmunodifusión radial (IDR) Doble difusión en gel (DDG) ELISA modificada
- Proteínas de membrana externa

Western blotting

- Proteínas citoplasmática (PC) Doble difusión en gel (DDG) Contra inmunoelectroforesis (CIE) Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

b. Según el tipo de inmunoglobulina

IgM: lentas, rápida, rosa de bengala, ELISA

IgG: lentas, rápida, rosa de bengala, ELISA, fijación de complemento, rivanol, coombs

IgG1: Rosa de bengala, fijación de complemento

IgG2: rápida y lenta (Barragán, 2006).

2.2.2. Diagnóstico de Laboratorio

La prueba ideal es la que reúne la capacidad de identificar infecciones latentes y crónicas, que diferencia animales vacunados de infectados y no sea influenciada por anticuerpos inespecíficos aún no está disponibles.

Como regla general se recomienda las siguientes pruebas.

2.2.2.1. La prueba de huddleson

Es una reacción de aglutinación rápida en placa. Se enfrentan cantidades decrecientes del suero a investigar con cantidades constantes de antígeno y se observa la presencia o no de aglutinación.

Existe una escala de títulos, establecida por convención, que permite la expresión de resultados. El Antígeno es una suspensión de *Brucella abortus*, al 3 - 10% de gérmenes en fenol, con verde brillante y cristal violeta.

Técnica

Se coloca el suero con la pipeta en los cinco (pueden ser cuatro) cuadrillos de las filas transversales de la placa de vidrio del aglutinómetro, empezando por el frente hacia atrás. La primera porción es de 0,08ml luego sigue la de 0,04ml, y a continuación las de 0,02 – 0,01 y 0,05 ml.

Inmediatamente se deja caer sobre cada porción de suero una gota de antígeno, cuya cantidad representa 0,03 ml; se mezclan bien los líquidos con palillos de dientes, empezando con la dilución menor hasta terminar con la de 0,08ml de suero. Una vez mezclado el suero con el antígeno, dicho suero queda diluido 1:25 - 1:50 – 1:100 –

1:200 y 1:400, como puede observarse en el cuadro uno.

Tabla 1. *Cantidades de suero, antígeno y diámetros de la prueba de Huddleson*

Cantidades de suero, antígeno y diámetros.			
Dilución	Cantidad de suero	Cantidad de antígeno	Diámetros
1:25	0,08ml	0,03ml	27mm
1:50	0,04ml	0,03ml	24mm
1:100	0,02ml	0,03ml	21mm
1:200	0,01ml	0,03ml	18mm
1:400	0,005ml	0,03ml	15mm

Fuente: Martínez, 1977.

Terminada la operación de mezcla se aconseja levantar el vidrio y darle movimientos rotatorios a fin de que el líquido se mueva constantemente mientras la lámina se mantiene horizontal. Transcurridos tres minutos del contacto del suero con el antígeno, se realizara la lectura, aunque se puede esperar hasta ocho minutos; para realizar la lectura es necesario encender la luz del aglutinómetro.

En las reacciones negativas no se altera el estado homogéneo de la mezcla, en cambio en las positivas se advierte el agrupamiento de las bacterias en forma de grumos, lo cual es muy notorio.

Interpretación: se hace solamente tres clasificaciones: aglutinación completa (c) es aquella en la que el líquido de la mezcla suero antígeno aparecen claro y la agitación suave no rompe los grumos; aglutinación incompleta (I) es aquella en la que la mezcla suero antígeno es parcialmente clara y la agitación no rompe los grumos; aglutinación negativa (-) es aquella en la que la mezcla suero antígeno no aparece clara y una suave agitación no revela grumos.

Para la interpretación de los resultados debe tomarse en cuenta que las aglutinaciones completas en diluciones 1:1000 o más altas pueden ser consideradas como positivas y la ausencia de aglutinación a la dilución 1:50 como negativa; las reacciones en las diluciones de 1:50 pero no mayores, son consideradas como sospechosas, tal como se observa en el

cuadro dos.

Tabla 2. Interpretación de los resultados de la prueba de Huddleson.

Interpretación de los resultados				
1:25	1:50	1:100	1:200	Interpretación
-	-	-	-	Negativa
I	-	-	-	Negativa
+	-	-	-	Negativa
+	I	-	-	Sospechosa
+	+	-	-	Sospechosa
+	+	I	-	Sospechosa
+	+	+	-	Positiva
+	+	+	I	Positiva
+	+	+	+	Positiva

Fuente: Martínez, 1977.

2.2.2.2. Rosa de bengala

La técnica de Rosa de Bengala es una prueba de screening que se caracteriza por ser de alta sensibilidad y niveles menores de especificidad, lo que quiere decir que no vamos a obtener resultados falsos negativos pero sí en algunos casos falsos positivos ya que puede producir reacciones cruzadas con otras bacterias.

Por lo tanto se recomienda que todos los resultados POSITIVOS a Rosa de Bengala sean confirmados mediante la técnica de Elisa indirecto o Elisa Competitivo para *Brucellas*.

Es una prueba de aglutinación, utiliza células completas de *Brucella abortus* cepa 1119-3 coloreadas con rosa de bengala a un pH de 3.65 el pH bajo previene la aglutinación por IgM y estimula la aglutinación por IgG1, reduciendo alteraciones no específicas, es

considerada útil para el tamizaje individual de animales. La prueba consiste en hacer reaccionar el suero sanguíneo del bovino con el rosa de bengala.

Proceso analítico

1. Separación de las muestras a analizar mediante centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos.
2. Extracción del suero e identificación de tubos eppendorf.
3. Colocar en la placa de vidrio 30 μ L de suero en cada uno de los pocillos de reacción y 30 μ L de reactivo rosa de bengala.
4. Homogenizar la muestra
5. Someter a agitación durante 4 minutos a 3000 rpm.
6. Leer los resultados.
7. Conservar los tubos eppendorf en congelación a -20°C (Nielse, 2002).

2.2.2.3. Brucella elisa competitiva

Brucella Abortus C- ELISA-Ab está diseñado para detectar, anticuerpos específicos contra *Brucella abortus*, en muestras de suero de animales domésticos y salvajes, por lo tanto éste test es aplicable a múltiples especies. El test se basa en la técnica del enzima-inmuno ensayo competitivo en fase sólida, pudiendo distinguir entre animales infectados y animales vacunados con la cepa 19 de *Brucella abortus*.

Es un test de ELISA diseñado para ser comparado con el Test de Fijación de Complemento.

Las placas microtiter se encuentran tapizadas por un lipopolisacarido (S-LPS) de la bacteria, junto con un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para un epítipo de la porción o-polisacárido del antígeno S-LPS. Una vez añadidas las muestras a los pocillos de la placa y después de un tiempo de incubación, las placas se lavan y a continuación se incuban con un anticuerpo anti-mouse IgG conjugado con peroxidasa. La aparición de color se debe a la conversión del sustrato por el conjugado, la densidad óptica es medida en un fotómetro a 450 nm.

En ausencia de anticuerpos anti-*Brucella* en el suero problema (suero negativo), el anticuerpo monoclonal (mAb) se unirá al epítipo de la porción o- polisacárido del

antígeno S-LPS, con la consiguiente aparición de color. Si la muestra contiene anticuerpos específicos de *Brucella* (suero positivo), éstos competirán con el anticuerpo monoclonal (mAb) e inhibirán su unión al epítipo de la porción o-polisacárido del antígeno S-LPS y la consiguiente no aparición de color. Muestras procedentes de animales vacunados, con la cepa C19 no competirán con el anticuerpo monoclonal (mAb), debido a su especificidad y baja afinidad, dando como resultado una reacción negativa. Pueden haber casos de falsos positivos si las muestras de suero son tomadas antes de 6 meses después de la vacunación del animal.

Procedimiento

1. Todos los reactivos deben ser preparados a temperatura ambiente: 18-25° C.
2. La dilución de las muestras y de los controles puede hacerse de dos formas distintas:
 - a. Prediluyendo la muestra antes de añadir al pocillo
 - b. Añadiendo directamente la muestra y los controles al pocillo.
3. Predilución de las muestras y de los controles
 - a. Prediluir los tres controles y las muestras a testar 1/10 en tubos separadamente añadiendo a 20µl de cada muestra 180µl de Buffer de Dilución de muestra.
 - b. Añadir 50 µl de Buffer de Dilución de muestra a dos pocillos elegidos previamente como control del conjugado (Cc).
 - c. Añadir 50 µl de cada muestra prediluida y de cada control prediluido en los pocillo. Se recomienda poner duplicados de los controles.
4. Dilución de las muestras y de los controles en el pocillo directamente.
 - a. Añadir 45 µl de Buffer de Dilución de muestra en cada pocillo.
 - b. Añadir 5 µl de cada control en los pocillos elegidos previamente para los controles.
 - c. Se recomienda poner duplicados de los controles.
 - d. Añadir 50 µl de Buffer de Dilución de muestra a dos pocillos elegidos previamente como Control del Conjugado (Cc).
 - e. Añadir 5 µl de cada muestra a los pocillos apropiados.
 - f. Añadir 50 µl de la Solución mAb, preparada previamente, a todos los pocillos incluidos los controles.

- g. Nota: el tiempo transcurrido desde añadir las muestras hasta añadir el anticuerpo monoclonal (mAb), no debe ser superior a 10 minutos.
- h. Agitar la placa suavemente a temperatura ambiente durante 5 minutos, para asegurar una mezcla homogénea en los pocillos de la placa.
- i. Incubar a temperatura ambiente (+18-25°C) durante 30 minutos.
- j. Lavar los pocillos cuatro veces con PBS-Teewn.
- k. Añadir 100 µl de Conjugado en cada pocillo. Agitar e incubar a temperatura ambiente (+18-25°C) durante 30 minutos.
- l. Lavar cuatro veces cada pocillo con PBS-Teewn.
- m. Añadir 100 µl Solución Sustrato a cada pocillo e incubar 10 minutos a temperatura ambiente (+18-25°C).
- n. Parar la reacción añadiendo 50 µl de Solución de Frenado a cada pocillo, agitar la placa. Añadir la Solución de Frenado en el mismo orden que la solución Sustrato.
- o. Medir la densidad óptica (OD) en un fotómetro para placas microtiter a 450 nm (usar una placa vacía como el control blanco). Se recomienda medir las OD quince minutos después de añadir la solución de frenado para evitar fluctuaciones en los valores.

Cálculos

1. Calcular los valores de OD para los controles y las muestras.
2. Calcular el Porcentaje de Inhibición (PI) para las muestras y para los controles de la siguiente manera:

$$PI = 100 - OD \text{ del control o muestra} \times 100 / OD \text{ del Control del Conjugado (Cc)}$$

Ejemplo:

$$PI = 100 - 0,300 \times 100 / 1,030 = 70,9 \%$$

Interpretación de resultados

1. Controles

Para validad el test, los controles deben estar entre los siguientes límites:

- OD Control del Conjugado = 0,75-2,0
- PI Control Positivo = 90-110
- PI Control Positivo Débil = 35- 65

PI Control Negativo = -10- 15

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

2. Muestras

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

PI = ESTATUS

< 30 % = NEGATIVA

>= 30 % = POSITIVA

NOTA: Muestras negativas pueden proceder de animales que han sido vacunados con *B. Abortus* (Dájer y otros 2003).

Otras pruebas importantes y complementarias para el diagnóstico de brucelosis:

2.2.2.4. Prueba del anillo en leche (Ring Test)

De gran utilidad para identificar rebaños infectados. El antígeno se colorea con Hematoxilina (azul) y se realiza adicionando 1 gota (0,03 ml) a 1ml de leche fresca. En la reacción positiva las brúcelas suben a la superficie con los glóbulos de grasa, formando un anillo coloreado.

Esta prueba es útil cuando se emplea en las plantas de tratamiento de leche y debe ser utilizada en mezcla de leche de varios animales. Puede también emplearse como forma de diagnóstico individual mediante una leve modificación de la técnica. Podemos hallar falsos positivos en el caso de leches calostrales, ácidas o de animales con mastitis.

2.2.2.5. Fijación de complemento

Considerada la más sensible y específica, tiene en contra él no estar estandarizada y el ser una prueba muy laboriosa.

2.2.2.6. Prueba de rivanol

Se usa el colorante de acridina para precipitar los IgM; después se centrifuga el suero en presencia de rivanol el sobrenadante se une en el test.

El antígeno también contiene rivanol y la positividad significa presencia de IgG.

2.2.2.7. Prueba de 2mercaptoetanol (2ME)

En esta prueba los anticuerpos del tipo IgM son degradados por los radicales Tiol; se realiza al tiempo con la prueba lenta y la interpretación se realiza por comparación entre las dos. Si hay títulos significa presencia de IgG.

2.2.2.8. Prueba de Inmunodifusión Radial (IDR)

Emplea como antígeno el polisacárido B o Hapteno Nativo, el cual se adiciona el agar. En pocillos perforados en el agar se colocan los sueros a evaluar, los sueros positivos presentan un anillo de precipitación alrededor del antígeno. Estudios efectuados indican que animales vacunados con B19, dan reacción negativa en esta prueba y animales infectados dan positivo.

2.2.2.9. Pruebas alérgicas

Se usan para evidenciar la inmunidad mediada por las células (hipersensibilidad tardía). Refleja la respuesta de los linfocitos T y macrófagos sensibilizados frente al antígeno de *Brucella*. Son usadas en forma de pruebas cutáneas (skin test), en la prueba positiva aparece en la región de la inoculación, un eritema 24 horas después, máximo 48 a 72 horas.

El producto empleado se llama brucelina y puede dar una reacción positiva en animales vacunados lo que limita un poco su uso rutinario (Barragán, G. 2006).

2.3. Diagnóstico diferencial

En el cuadro tres, comparativo vemos el diagnóstico diferencial de la Brucelosis Bovina.

Tabla 3. Diagnóstico diferencial de la Brucelosis Bovina

ENFERMEDAD	CLINICO	LESIONES	DCO.
BRUCELOSIS (<i>abortus</i>)	Aborto, retención de placenta	Placenta: con focos de necrosis y engrosamiento	Serológico, aglutinación positiva, aislamiento, tinción específica.
RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR)	Aborto, vulvovaginitis, rinotraqueitis, balanopostitis,	Rinotraqueitis con cuerpos de inclusión intranucleares,	Serológico, microaglutinación, aislamiento, inmunofluorescencia.
LEPTOSPIROSIS	^{encefalic} Aborto, agalactia, leche amarilla	^{neumonía} Nefritis intersticial	Serológico, microaglutinación, aislamiento, inmunofluorescencia
SALMONELOSIS	Aborto con fiebre y diarrea sin síntomas	Enteritis	Aislamiento bacteriológico
DIARREA VIRAL BOVINA (DVB)	Aborto, anorexia, fiebre, diarrea	Defectos congénitos en fetos	Histopatológico SNC, aislamiento, inmunofluorescencia
HONGOS <i>A. fumigatus</i>	Aborto 5 – 6 meses	Placentitis con placas de necrosis y engrosamiento	Hifas en la placenta con coloración especial, aislamiento en estomago
BOCIO (no infeccioso)	Aborto	Hipertrofia de la glándula tiroides del feto	Histopatológico y peso de la glándula tiroides

Fuente: Barragán, 2006.

2.4. Inmunización de rebaños

Para su prevención en el ganado bovino mediante vacunación las dos vacunas mundialmente más utilizadas contra la brucelosis bovina son: la cepa 19 y la RB51. La vacuna “cepa 19” de *Brucella abortus* es la más ampliamente utilizada para prevenir la brucelosis en el ganado bovino, continúa siendo la vacuna de referencia con la que se compara el resto de vacunas. Se utiliza como una vacuna viva que por lo general se suministra a terneras entre 3 y 6 meses como una dosis única subcutánea de 5-8 x 10¹⁰

viabiles. Se puede administrar al ganado adulto una dosis reducida de 3×10^8 a 3×10^9 microorganismos, pero algunos animales desarrollan títulos duraderos de anticuerpos y pueden abortar y excretar la cepa vacunal por la leche. Alternativamente, se puede administrar a ganado de cualquier edad en dos dosis de $5-10 \times 10^9$ microorganismos viabiles por vía conjuntival; esto produce protección sin una respuesta duradera de anticuerpos y reduce los riesgos de aborto y de excreción en la leche.

La vacuna con *Brucella abortus* S19 induce una buena inmunidad frente a desafíos moderados por microorganismos virulentos. La vacuna debe prepararse de inóculos derivados del Departamento de Agricultura de los EAU.

- USDA y cada lote ha de probarse para pureza (ausencia de microorganismos extraños), viabilidad (bacterias vivas por dosis) y homogeneidad (determinación de la fase de disociación). Los lotes de inóculo para la producción de vacuna S19 deben comprobarse regularmente en ratones para virulencia residual e inmunogenicidad.

Respecto a la vacuna RB51 de *Brucella abortus* desde 1996 esta cepa es la vacuna oficial en muchos países para la prevención de la brucelosis en el ganado vacuno. Sin embargo, su eficacia e inocuidad en comparación con la S19 son motivo de controversia. Cada país utiliza métodos ligeramente diferentes de administrar la vacuna. En EE.UU. las terneras se vacunan subcutáneamente entre los 4 y 12 meses con $1-3,4 \times 10^{10}$ microorganismos viabiles de la cepa RB51. La vacunación de ganado de mayor edad solo se hace bajo autorización de organizaciones estatales o federales de salud animal y la dosis recomendada es de 1×10^9 microorganismos viabiles. En otros países se recomienda la vacunación de terneros (4-12 meses) con dosis de $1-3,4 \times 10^{10}$, y la revacunación de 12 meses en adelante con una dosis similar para inducir un efecto de recuerdo y aumentar la inmunidad.

Se ha descrito que cuando se administran intravenosamente al ganado dosis completas de RB51 se induce placentitis grave e infecciones placentarias en la mayoría del ganado vacunado y que un número notable de éstos excreta microorganismos en la leche.

Las experiencias de campo también indican que en algunos casos puede provocar aborto si se aplica a vacas grávidas. Debido a estas observaciones se debe evitar la vacunación de vacas grávidas. Un modo de reducir los efectos colaterales de RB51 es reducir la dosis. Con la dosis reducida de esta vacuna (1×10^9 unidades formadoras de colonias

[CFU]) no se producen abortos ni lesiones placentarias en el ganado vacunado subcutáneamente, aunque un porcentaje significativo de estos animales excreta la cepa vacunal. Sin embargo, esta dosis reducida no protege contra *B. abortus* cuando se usa en la vacunación de terneros, aunque lo hace cuando se aplica a adultos.

Debe destacarse que, como la S19, la cepa RB51 puede infectar a humanos. La cepa RB51 es muy resistente a rifampicina, uno de los antibióticos de elección en el tratamiento de la brucelosis humana (Piñate Pedro, 2008).

2.5. Inmunidad de la brucelosis

2.5.1. Inmunidad Natural

Los terneros infectados in útero, o por contagio después del nacimiento, generalmente permanecen infectados solo un corto tiempo, a menos que se les crie con leche infectada o se mantengan en un ambiente infectado. Si se les pone fuera de contacto con la infección, después de varias semanas el germen desaparece y el animal se desarrolla normalmente. Solo cuando la vaca llega al periodo de pubertad o está preñada, la ubre comienza a funcionar, sobreviene nuevamente el peligro.

Los animales adultos que nunca han estado en contacto con la infección son los más susceptibles para adquirirla y los que abortan con mayor facilidad cuando están infectados. El animal que ha abortado una vez o que se ha infectado en estado adulto o sin abortar, no adquiere fácilmente la infección por segunda vez.

Esto indica el desarrollo de un grado de inmunidad como resultado de la primera infección. A menudo esta inmunidad no es lo bastante intensa como para prevenir un segundo o tercero y hasta un cuarto aborto. En general, la mayoría de los animales después de uno o dos abortos, llevarán a término sus terneros, aunque permanezcan infectados.

Parece existir un grado considerable de variación en la resistencia individual de las vacas.

Algunos animales parecen ser totalmente resistentes, tanto a la infección natural como a la artificial, aunque su sangre no contenga anticuerpos; en cambio otros animales son infectados fácil y repetidamente.

2.5.2. *Inmunidad Artificial*

La respuesta es más rápida, efectiva e intensa en encuentros sucesivos con el mismo antígeno por la presencia de linfocitos de memoria. Puede ser de base humoral o de base celular, en función de si el predominio de la respuesta inmune está a cargo de ELEMENTOS SOLUBLES O CÉLULAS.

- a. Empleo de bacterinas o cultivos muertos.
- b. Empleo de cultivos vivos virulentos
- c. Empleo de cultivos vivos atenuados:
 - Vacuna cepa 19 de *Brucella abortus*
 - Vacuna RB51

2.5.3. *Las Inmunoglobulinas en Brucelosis*

El término inmunoglobulinas comprende las proteínas que poseen actividad de anticuerpo. Las principales inmunoglobulinas (Ig) que nos conciernen en Brucelosis son la M y la G. Se reconocen en el bovino dos subclases de IgG: la IgG 1 y la IgG 2. La IgG 1 es la más abundante en el suero y secreciones lácteas mientras que la IgG 2 se encuentra en concentraciones más bajas, pero puede aumentar en determinadas circunstancias. La IgA fue poco estudiada en Brucelosis.

2.5.3.1. *Principales características de las inmunoglobulinas*

Las inmunoglobulinas IgM e IgG se diferencian entre otras características por su peso molecular, constante de sedimentación, estabilidad al calor, movilidad electroforética, resistencia al mercaptoetanol, precipitación por el rivanol que es un compuesto de la acridina e inhibición por pH bajo.

2.5.3.2 *Influencia de la vacunación sobre el diagnóstico*

La vacunación tiene indudables ventajas pero también algunas desventajas. El inconveniente mayor es que la vacuna induce la formación de anticuerpos que pueden confundir el diagnóstico. Para contrarrestar este inconveniente se debe vacunar entre los 3 y 8 meses de edad. Cuanto más joven es el animal, menor tiempo retiene los anticuerpos

debido a la vacunación. Las hembras vacunadas a los 3 meses se vuelven negativas dos meses después de la vacunación, en cambio las vacunadas a los 6 meses tardan en hacerlo 6 meses y las vacunadas a los 9 meses (fuera de la edad permitida) mantienen la clasificación de sospechosa 15 meses después de la vacunación. En términos generales se puede afirmar que el 95 % de las hembras vacunadas a los 3-8 meses se negativizan a la edad de 2 años.

Otro aspecto es la infección residual por la vacuna. La cepa 19 produce en general un proceso de infección de corta duración en los animales vacunados. Sin embargo en algunos animales se ha podido comprobar una infección duradera y persistente en el tejido mamario, con aislamiento de la cepa vacunal en leche.

Estos animales no pueden distinguirse de los infectados por cepas a campo mediante pruebas serológicas. Afortunadamente la proporción de estos animales es muy baja 2-3 /100.000 terneras vacunadas.

2.5.3.3 Evolución de las inmunoglobulinas en animales vacunados e infectados

La vacunación con la cepa 19 estimula la aparición de IgM al cabo de unos 5-7 días y alcanzan su máxima concentración a las 2-3 semanas. Luego su concentración en el suero va reduciéndose pero sin desaparecer durante varios meses.

Las IgG aparecen casi al mismo tiempo, o algo más tarde, y alcanzan su máxima concentración de 28 a 42 días después de la vacunación. Estas inmunoglobulinas desaparecen más rápidamente que las IgM, perdurando unos 6 meses después de la vacunación de terneras jóvenes.

La infección natural o experimental con cepas de *Brucella abortus* virulentas va seguida de la formación de IgM e IgG, pero la concentración de IgM declina, mientras que la IgG tiende a persistir todo el tiempo que el animal está infectado.

En animales con Brucelosis crónica la IgG es la inmunoglobulina principal y a veces la única detectable. En consecuencia, la diferencia principal entre animales vacunados e infectados es la perdurabilidad de la IgG en estos últimos, a las pruebas del 2 mercaptoetanol, Rivanol, Fijación de Com.

2.5.3.4 Presentación gráfica de la relación de la edad de vacunación y el nivel y persistencia de IgG

La vacunación de terneras con cepa 19 es obligatoria para todos los hatos del país. En los hatos donde se está en proceso de erradicar la infección o ya fue erradicada, interesa evitar al máximo la interferencia que puedan tener los anticuerpos originados por la vacunación con el diagnóstico de la enfermedad.

Anteriormente se expresó que cuanto más joven es el animal al vacunar tanto más rápidamente desaparecen los anticuerpos post vacunales.

Veamos la relación del tenor y persistencia de los anticuerpos IgM e IgG en relación a la edad de vacunación. Las figuras uno y dos muestran gráficamente la diferencia en el aspecto mencionado, cuando se vacunan terneras de 4 a 6 meses o de 8 meses de edad.

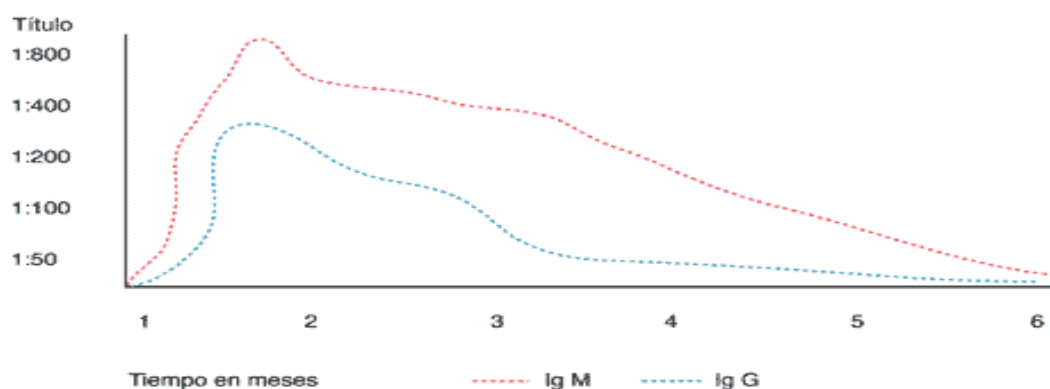


Figura 1. Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con cepa 19 entre 4 y 6 meses de edad (Szyfres, 2002).

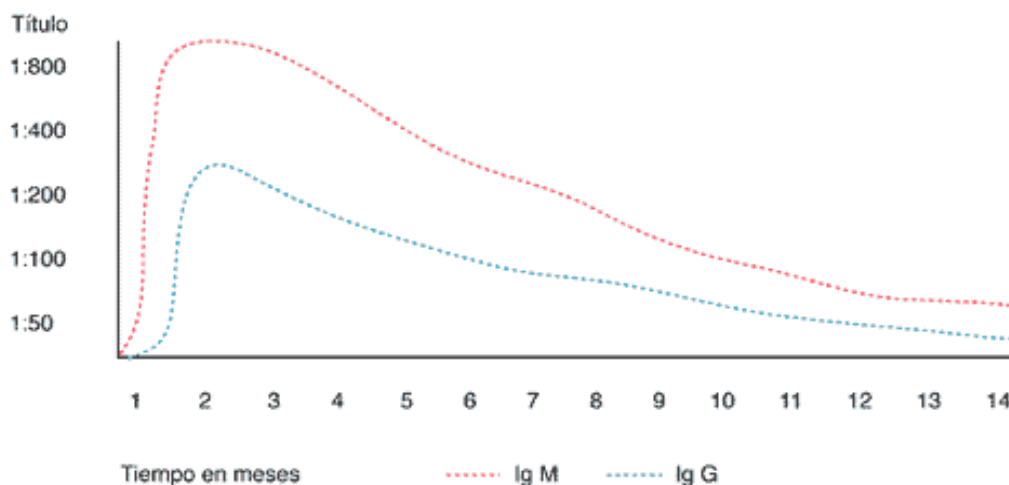


Figura 2. Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con la vacuna cepa 19 a los 8 meses de edad (Szyfres, 2002).

Según se puede observar, los anticuerpos a títulos significativos no solo desaparecen más rápidamente en terneras vacunadas entre 4 y 6 meses de edad, sino que el nivel de la IgG es mucho menor y menos persistente que cuando se vacunan animales a los 8 meses y con más razón a mayor edad. Vacunando a edad temprana no solamente se reduce el riesgo de títulos persistentes a la prueba de seroaglutinación, sino también a las pruebas complementarias. De ahí la recomendación de vacunar a temprana edad en los establecimientos donde se está erradicando la brucelosis.

2.5.3.5. Pautas de IgM e IgG en animales infectados no vacunados y vacunados.

Cuando un animal es infectado natural o experimentalmente, aparecen primero los anticuerpos IgM y al poco tiempo las IgG. En la figura tres vemos un ejemplo de una vaquillona no vacunada y expuesta a una cepa virulenta que reaccionó primero a la seroaglutinación debido a anticuerpos de la clase IgM, ya que los de la clase IgG no se habían formado todavía. Durante el curso de la infección empezaron a predominar las inmunoglobulinas G y mantuvieron un nivel más alto que las IgM.

Si bien esta figura tres representa solo un animal y las pautas de la seroaglutinación pueden variar en diferentes individuos, de acuerdo a la dosis de exposición y vía de inoculación, el ejemplo ilustra bien que las inmunoglobulinas M se forman como una respuesta específica y son importantes para el diagnóstico, especialmente al principio de la infección. Cuando una hembra vacunada se infecta por una cepa virulenta, los anticuerpos IgG reaparecen más pronto debido a la memoria inmunológica.

2.5.3.6 Sensibilidad y especificidad de las pruebas

Entendemos por sensibilidad de una prueba el grado de capacidad que tiene para detectar animales infectados por el agente específico, en nuestro caso *Brucella*. De esta manera, si la prueba que usamos da reacciones positivas en 98 animales de 100 bovinos infectados diremos que la prueba tiene 98 % de sensibilidad. El 2% restante son "falsos negativos".

En un programa de erradicación interesa mucho que la prueba empleada sea lo suficientemente sensible para que el grado de error por "falsos negativos" sea el menor posible, ya que el objetivo es eliminar todo foco de infección de un rodeo.

Ninguna prueba es capaz de descubrir el 100 % de los bovinos infectados de todos los rodeos.

Por especificidad en cambio medimos el grado de capacidad de la prueba de detectar el mayor número de infecciones específicas y el menor número de "falsos positivos". Una prueba altamente específica será la que de menos reacciones de "falsos positivos". Si de 100 animales no infectados, la prueba da reacciones positivas en 5 animales, decimos que la misma tiene una especificidad del 95%. Una prueba poco específica es causa por consiguiente del sacrificio de animales sanos y de pérdidas económicas innecesarias. Ninguna prueba serológica sin embargo es 100 % específica. Si nosotros quisiéramos dar a una prueba mayor sensibilidad, disminuiría a la vez la especificidad.

2.5.3.7 Las pruebas de seroaglutinación

Estas pruebas fueron y son ampliamente usadas para el diagnóstico de la brucelosis. Sin embargo cuando la proporción de hatos infectados y la prevalencia global de la infección llegan a tasas reducidas, aparecen junto con las limitaciones de las pruebas los rodeos problema, en los cuales hay que recurrir a otras pruebas para poder erradicar la enfermedad.

En las pruebas de seroaglutinación predominan la reacción con las IgM. Las IgG 1 e IgG 2 difieren en su actividad. La IgG1 tiene poco poder aglutinante, mientras que la IgG 2 es activa en la prueba.

2.5.3.8 Los "falsos positivos"

Los "falsos positivos" en las reacciones se deben a varias causas, tales como anticuerpos residuales por la vacunación con cepa 19 y reacciones cruzadas debidas a anticuerpos originados por bacterias que tienen lipopolisacáridos superficiales similares a los de *Brucella*.

Ya se dijo que hay una pequeña proporción de animales especialmente los vacunados a una edad tardía que puede mantener anticuerpos aglutinantes que persisten durante mucho tiempo.

Las reacciones en estos casos se deben a la inmunoglobulina M, ya que la IgG2

generalmente desaparece rápidamente y la IgG 1 es poca activa en la prueba y además su concentración se reduce al poco tiempo después de la vacunación.

El origen de muchas reacciones inespecíficas del bovino no se conoce. Sin embargo se sabe que algunas salmonellas dan reacciones cruzadas.

Se ha comprobado que hay una relación antigénica entre *Brúcela* y *Escherichia coli* y con *Yersinia enterocolítica*.

2.5.3.9 Los "falsos negativos"

Los "falsos negativos" en las pruebas de aglutinación se presentan durante el período de incubación es decir desde la exposición a la infección hasta la aparición de las aglutininas. En hembras expuestas por primera vez a la infección durante la gestación es frecuente que las aglutininas aparezcan varios días a dos semanas después del aborto o del parto. Además hay animales infectados que nunca alcanzan un título aglutinante significativo.

De especial interés son algunos animales con infección crónica, que se encuentran en los llamados "rodeos problema" y en los cuales las IgM han bajado a un nivel no diagnóstico y casi todos los anticuerpos están constituidos por IgG.

Estos animales pueden ser reconocidos por las pruebas complementarias. La figura cuatro ilustra los resultados de seroaglutinación de algunas vacas de "ganaderías problema".

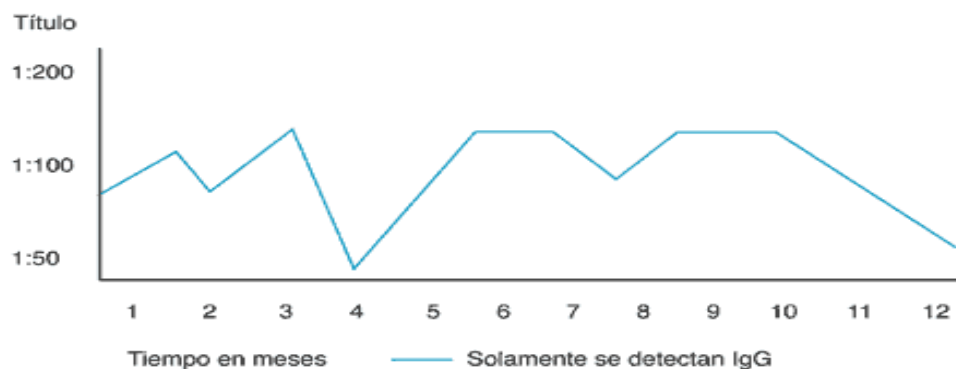


Figura 3. Representación esquemática de los resultados de la prueba de seroaglutinación de algunas vacas infectadas de "hatos problema" (Szyfres, 2002).

2.5.3.10 Procedimientos a seguir con hembras y machos de reacción sospechosa

Los animales sospechosos a la prueba de aglutinación deben ser examinados en la próxima prueba general del hato. Sí es posible antes, con el fin de clarificar su estado frente a la infección sobre la base del aumento, estabilidad o reducción del título. Si el título se incrementa es indicación que el animal está enfermo; si disminuye, se le otorga la clasificación de negativo. Más difícil es decidir sobre los animales con títulos estables del rango de sospechoso, que deberán ser eliminados o sometidos a pruebas complementarias. En toros con títulos bajos es conveniente además de las pruebas complementarias recurrir a la prueba de aglutinación en plasma seminal ya que a veces se comprueban títulos más altos en semen que en suero (Szyfres, 2002).

2.6. Justificación

El presente trabajo de investigación se justifica por los siguientes motivos:

En el Departamento Pando ya existe estudio información epidemiológica sobre Brucelosis bovina.

La razón principal que hizo imprescindible investigar sobre la brucelosis es porque se transmite de los animales al ser humano (zoonosis), además el gran número de abortos, nacimiento de crías débiles, disminución en la producción de leche, los cuales afectan directamente en la rentabilidad del productor ganadero.

Por lo que el presente trabajo de investigación pretende brindar información que permita una real apreciación de la situación que se vive con relación a la actividad ganadera y servirá a las instituciones, estudiantes y otros.

No solo de salud pública sino también económica ya que con el diagnóstico específico de esta enfermedad se busca no solo erradicar o controlar la enfermedad sino también realizarlo con un método de diagnóstico rápido y eficaz que permita la menor pérdida económica para el predios palma seca del Municipio de Cobija.

3. OBJETIVOS.

3.1. Objetivo General.

Determinar la prevalencia de la brucelosis en el hato bovino del predio Palma Seca en el municipio de Cobija de provincia Nicolás Suárez del Departamento de Pando.

3.2. Objetivos Específicos.

- Selección de animales bovinos de las razas Gyr, Criolla y Holstein del predio palma seca para la toma de muestras serológicas.
- Identificar los animales sospechosos con Brucelosis bovina y su confirmación mediante la prueba rosa de bengala.
- Establecer la situación actual de la brucelosis bovina en el hato a través de un monitoreo serológico.
- Aportar con los datos al propietario sobre las medidas preventivas de control y/o erradicación de la enfermedad.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. *Materiales de Campo*

- 143 bovinos
- Registros de campo
- Lapiceros
- Cinta Masking
- Sogas
- Overol
- Mochila
- Cámara fotográfica
- Alcohol
- Agujas
- Capuchones
- Tubos (vacutainer)
- Guantes quirúrgicos
- Gradillas
- Termo
- Refrigerantes
- Vehículo de transporte

4.1.2. Materiales de Laboratorio

- Muestra de suero problema
- Tubos de ensayo (eppendorf)
- Pipetas desechables
- Agua destilada y solución fisiológica para la limpieza
- Registros de campo
- Registros de laboratorio

4.1.2.1. Equipos

- Centrifuga
- Refrigeradora

4.1.3. Materiales de Oficina

- Computadora
- Calculadora
- Material de escritorio
- Papel bond
- Registros

4.2.Métodos

4.2.1. Ubicación del Área de Estudio

El presente trabajo de investigación se realizara en el Predio Palma Seca Municipio de Cobija perteneciente a la Provincia Nicolás Suarez del Departamento de Pando ubicada al norte de Bolivia con una Coordenadas 11°01'06"S 68°45'13" situada a orillas del río Acre, frontera con la República de Brasil, a una altitud de 228 msnm. Tiene un clima tropical y lluvioso con una superficie de 449,13 km² fundada el 09 de febrero de 1906, viento del NO a 11 km.

Cuenta con una población en el área urbana de 74.546 habitantes el municipio de Cobija (INE 2019). Lo cual 60,000 Ha. Son de ganadería, con 158 miembros que se dedican a la ganadería, haciendo un total de 24,541 bovinos. (SENASAG PANDO)

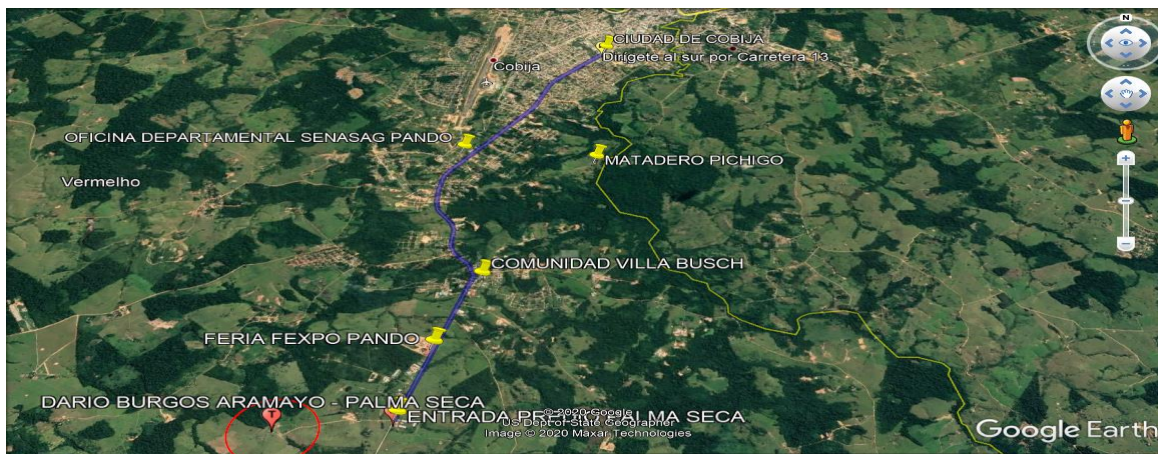


Figura 4. Predio Palma Seca

4.3. Metodología

Se realizara un estudio epizootiológico en el predio palma seca para luego identificar si existe la Brucelosis bovina, en el muestreo se plasma en pruebas serológicas en el predio palma seca, de acuerdo a las normas y procedimientos estipulados.

Identificar los animales con Brucelosis bovina y su confirmación con la prueba rosa de bengala.

Se tomaran muestras individuales de sangre mediante punción de la vena coccígea, extrayendo de 3 a 8 ml a todas las hembras a partir de los 4 meses de edad en adelante. Para

ello se utilizara el material adecuado. El material extraído (suero sanguíneo) será debidamente identificado, conservado y enviado a laboratorio para su procesamiento.

A medida que se ejecutara el muestreo, se tomaran datos correspondientes del animal (edad, raza y sexo) y datos de la zona, categoría y agrupación del hato, cuya información se registrara en un formulario diseñado para el trabajo de campo.

Aportar con los datos al ganaderos del predio palma seca para las medidas preventivas de control y/o erradicación de la enfermedad.

Las muestras recolectadas del campo se mandaran hacer procesada en el Laboratorio, la técnica que se utilizaran se tendrán un diagnóstico de brucelosis bovina si existe.

El procedimiento de la técnica, lectura e interpretación de la misma, se realizara de acuerdo a normas estandarizadas por el Servicio Nacional De Sanidad Agropecuaria E Inocuidad Alimentaria (Senasag). Luego se realizara la entrega de los resultados de las pruebas realizadas a la entidad ganadera para su conocimiento.

Según la explotación el 70% del propietario se dedica a criar animales tipo de leche, el 30% crían animales de doble propósito, cabe mencionar que la mayoría de los bovinos animales de raza Criolla, Holstein y Gyr.

El sistema de crianza es por pastoreo que representa el 100%, lo realizan de carácter extensivo.

Entre las enfermedades más comunes presentes en sus ganaderías, manifestados por el ganadero fueron: la Piroplasmosis y Anaplasmosis con un 40%, luego la Mastitis con un 30%, las Infertilidades lo resaltaron como una enfermedad evidente teniendo el 10% este problema, la diarrea en terneros con 10% y cojeras en bovinos en un 10%.

En la historia de abortos en vacas, el 10% ha tenido abortos y el 90% no ha tenido este problema.

En retenciones placentarias, el 20% tienen el problema en su ganadería y el 70% no lo tienen.

El uso de doramectinas el 14%. En las desparasitaciones, muchos utilizan un solo producto todo el tiempo, mientras el 14% juegan combinando las desparasitaciones todo

el año para tener mejores resultados y mantener mejores sus animales.

En la reproducción, el 100% utilizan la monta natural.

4.3.1. Variables en Estudio

Se evaluaron las siguientes variables:

- Los focos endémicos de Brucelosis.
- Métodos de Laboratorio Rosa de Bengala
- Raza o cruce genético
- Sexo
- Edad

4.3.2. Los focos endémicos de Brucelosis

Con los resultados de las muestras se identificó el sector donde se procedió a muestrear.

4.4. Métodos de Laboratorio

La técnica Rosa de Bengala se caracteriza por ser de alta sensibilidad y niveles menores de especificidad, lo que quiere decir que no tenemos resultados falsos negativos pero si casos de falsos positivos ya que puede producir reacciones cruzadas con otras bacterias.

Esta prueba de aglutinación, utiliza células completas de *Brucella abortus* coloreadas con rosa de bengala a un pH de 3.65, el pH bajo previene la aglutinación por IgM y estimula la aglutinación por IgG1, reduciendo alteraciones no específicas, es considerada útil para el tamizaje individual de animales.

4.4.1. Raza o cruce genético

Con los resultados se tomó en cuenta las características fenotípicas del animal.

- a. Sexo

Se tomó en cuenta el sexo y se procedió a tomar muestras en los machos por existir la monta directa, en lugar de la inseminación artificial.

b. Edad

El sangrado se lo realizo a animales mayores de 2 años de edad, porque en la zona se compra mucho ganado de diferentes sitios del país y puede ver sido esta una causa. Siempre se recomienda el muestreo a animales mayores de 18 meses para realizar prueba de Brucelosis.

4.4.2. Toma y Registros de Datos

- ▮ La muestra de sangre se tomó de la cola (vena caudal) de los 143 bovinos, utilizando una aguja y vacutainer por animal.
- ▮ Se registró el nombre o número del bovino en cada vacutainer.
- ▮ En el Laboratorio UNALAB se realizó en envió de las muestra para respectivo procesamiento con la técnica de ROSA DE BENGALA.
- ▮ Por último se procedió a entregar los resultados y fotocopias de los exámenes al ganadero

4.4.2.1. Análisis e Interpretación

Con los resultados de cada una de las variables se procedió a obtener los totales, promedios, y porcentajes; posteriormente se realizó una interpretación de carácter descriptivo y explicativo, que permitió llegar a conclusiones válidas en el trabajo investigativo.

4.4.2.2. Presentación de Resultados

Los resultados analizados e interpretados se presentaron mediante cuadros, gráficos estadísticos y de manera textual, en base a lo cual se elaboró el informe final.

5. RESULTADOS

5.1. La prevalencia de brucelosis bovina en el predio Palma Seca.

Del presente trabajo de investigación, se determinó que la incidencia de brucelosis bovina fue del 5.7%, a continuación se detallan los datos obtenidos en el cuadro cinco.

Tabla 4. *Porcentajes de la Prevalencia de Brucelosis Bovina en el predio Palma Seca*

No. de casos investigados	No. de casos positivos	No. de casos negativos	% de incidencia
143	6	137	5.7

De los 143 casos investigados, se obtuvieron 6 casos positivos y 137 negativos los que nos da un porcentaje de Prevalencia de Brucelosis Bovina en el predio Palma Seca del 5.7%. Ver cuadro 3.

Tabla 5. *Métodos de Laboratorio Rosa de Bengala*

Métodos	Muestras	Resultado
Rosa de Bengala	143	6 Positivo

Las 143 muestras investigadas, se pasaron por cada prueba, el método de la prueba de rosa de bengala obtuvo el 5.7%, pruebas fueron positivas. Ver tabla 4

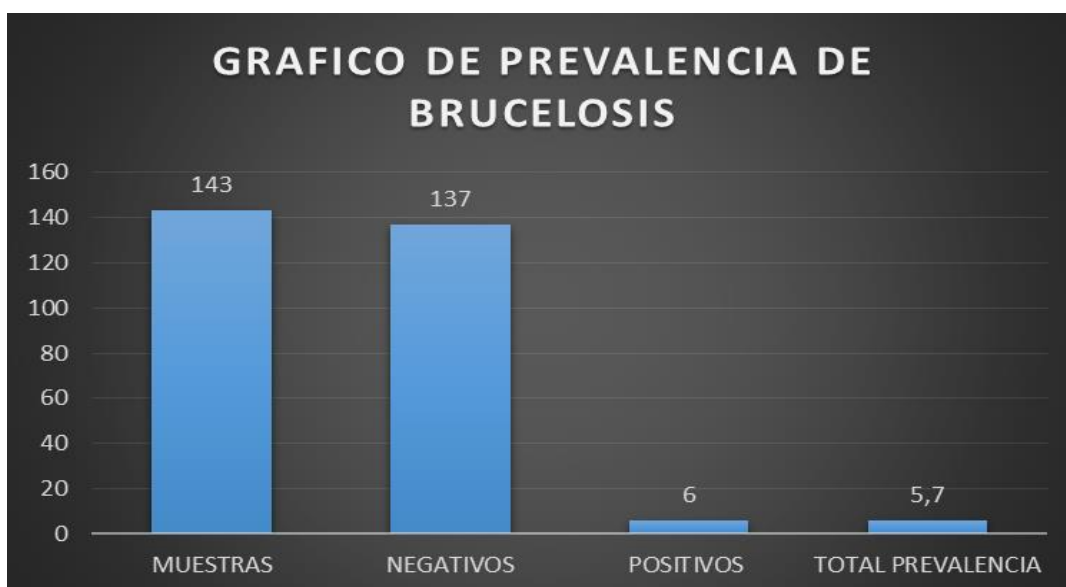


Figura 5. Porcentajes de la Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Método de Laboratorio Rosa de Bengala

Tabla 6. Raza o cruce genético existente en el predio Palma Seca

Razas	Número de animales	Porcentaje %
Holstein	60	41,95%
Criollas	30	20,97%
Gyr	53	37,06%
TOTAL	143	99,98%

En el cuadro siete se observa el tipo de ganado que existe en el predio palma seca. La raza con mayor número de animales es la Holstein con un 41.95%, luego les sigue la razas Gir con 37,06% Criollas 20,97% con poca influencia las razas, ver cuadro 5.

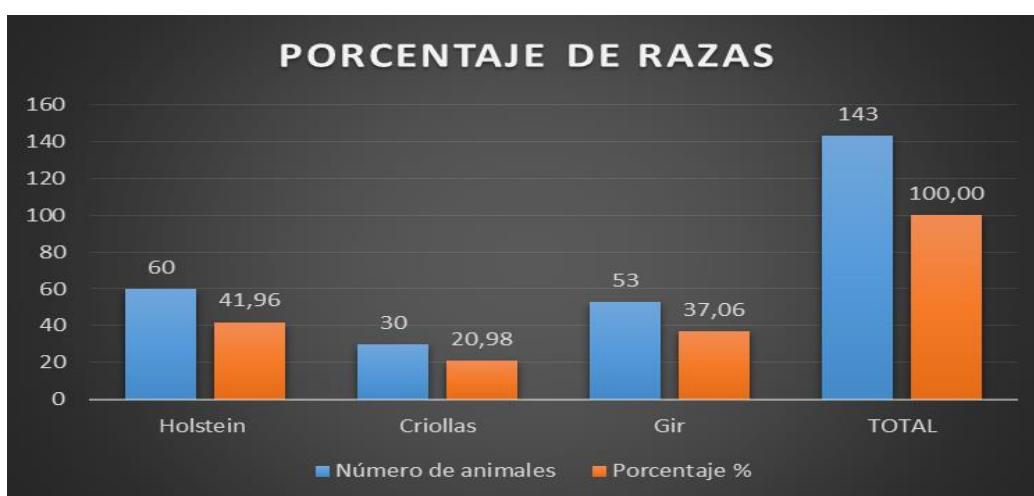


Figura 6. Porcentajes de la raza o cruce genético existente en el predio Palma Seca

Tabla 7. *Número de animales que se muestrearon por sexo*

Sexo	Número de animales	Porcentaje
Hembras	143	100%

En el cuadro ocho, observamos el número de animales que se muestrearon por sexo, el cual se detallan un número mayor de hembras que es un 100% ver figura 6.

Tabla 8. *Edades de los animales muestreados.*

Edades (años)	Número de animales	Porcentaje
1 años	13	9,1
1,5 años	13	9,1
2 años	10	7,0
2,5 años	6	4,2
3 años	9	6,3
4 años	13	9,1
5 años	14	9,8
6 años	29	20,3
7 años	14	9,8
8 años	13	9,1
9 años	4	2,8
10 años	5	3,5
TOTAL	143	100,0

En el cuadro nueve se observa las edades promedio que tienen los ganaderos en sus animales. Con mayor porcentajes en las ganaderías, son los animales de mayor edad que son los de 5 años representa el 22,40%, luego siguen los animales 3 y 4 años con el 18,93%, los animales de 6 años con un 13,25%, animales de 8 años con un 10,09%, los animales de 7 años 9,46% y por último los animales de 9 años con un 6,94%, ver figura nueve.

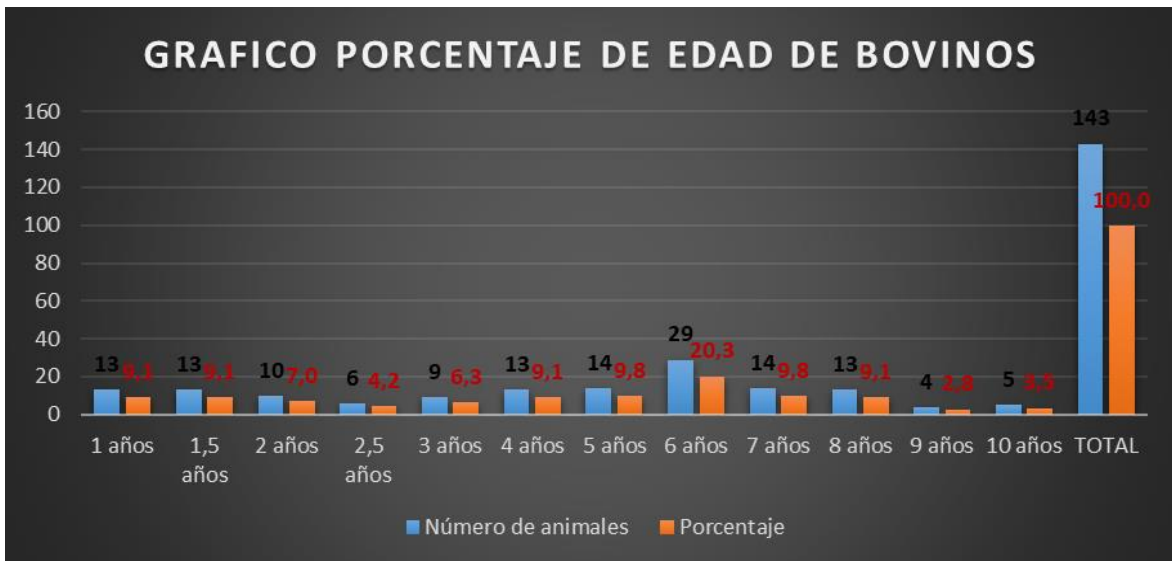
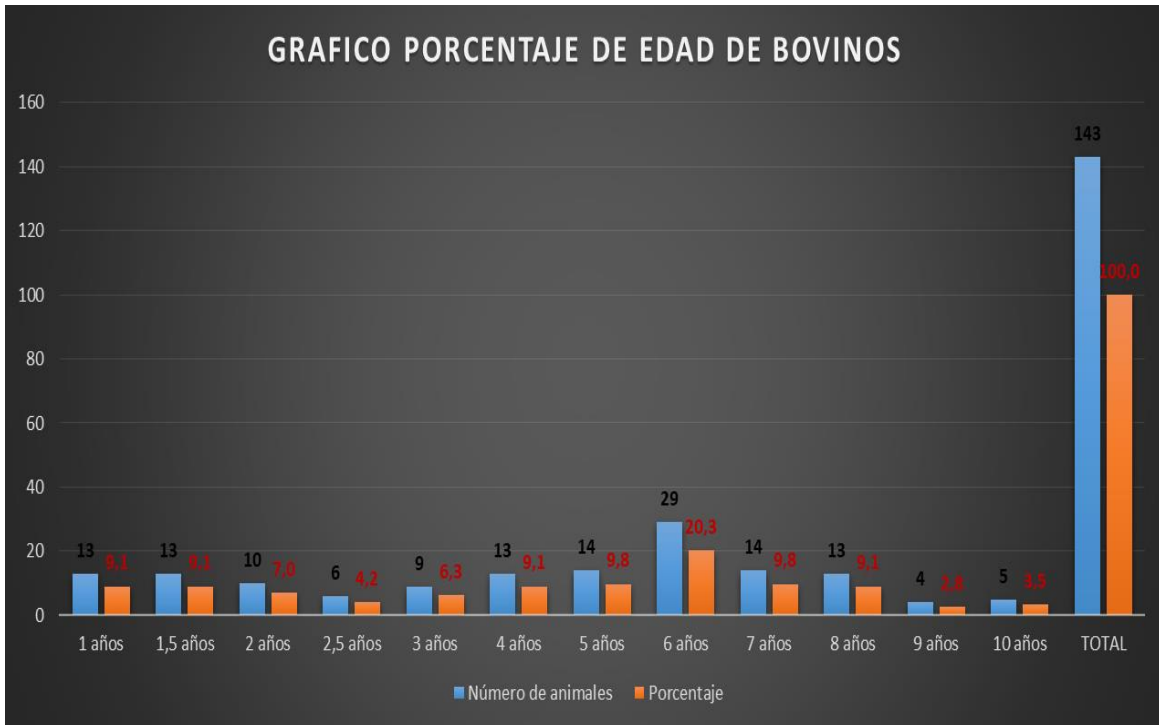


Figura 7. Edades en años de los animales muestreados.

5.2. Propuesta educativa y técnica para el control de brucelosis bovina al ganadero del predio Palma Seca

5.2.1. Antecedentes

El predio Palma Seca, está ubicada al sector Norte de la provincia Nicolás Suarez y al Noroeste con el municipio de Porvenir.

Limita, al Norte: Jurisdicción del municipio de Cobija. Al Sur: con el país del Brasil. Al Este: con la comunidad de villa Busch. Al Oeste: con el municipio de Porvenir. Sus habitantes se dedican a realizar actividades netamente agropecuarias y en especial a la crianza de ganado bovino y Producción de leche, el destino del ganado vacuno que se produce en el predio Palma Seca sirve para autoconsumo y comercialización de la leche a la población de la ciudad de cobija y carnes.

Entre las enfermedades más comunes de ganado vacuno en el predio Palma Seca, se ha detectado la presencia de la mastitis, anaplasmosis, sin embargo se ha descartado la presencia de Brucelosis.

En la actualidad sabemos que estas enfermedades son desconocidas por los ganaderos del lugar, pero se conoce que son muy difundidas en la mayoría de provincia Nicolás Suarez.

6. DISCUSIÓN

Justificación

Con esta investigación se contribuye, en la prevención y control de enfermedades, evitar los bajos rendimientos en la explotación y desvaloración de los productos y subproductos, aplicando las medidas necesarias para el control de la enfermedad, y así aumentar los ingresos económicos del ganadero.

Esto permitirá dar alternativas de solución a los sectores ganaderos del predio palma seca.

Actividades

- Diseño de planes sanitarios para la prevención y control de enfermedades existentes en el predio palma seca. Así como programas de animales portadores de enfermedades.
- Formación de agentes promotores del control sanitario.
- Fortalecimiento de la organización de Asociación de Ganaderos.
- Difusión de los resultados del proyecto.

Resultados esperados

- Diagnóstico de la prevalencia de brucelosis.
- Organización de promotores de los controles sanitarios.
- Proyectos de controles sanitarios.
- Organización de Ganaderos

Prevalencia de brucelosis

Con los métodos realizados de diagnósticos, encontramos un 5.7% de prevalencia de Brucelosis en el predio palma seca, que indica que esta enfermedad ha estado presente en el predio.

Es importante tomar en cuenta que deficiencia de vitaminas y minerales en la nutrición muchas de estas ayudan como sustancias antioxidantes mejorando la inmunidad de los bovinos y mejorando su fertilidad.

7. CONCLUSIONES

- ▮ La prevalencia de Brucelosis Bovina en el predio palma seca fue del 5.7%, el cual esta enfermedad ha estado presente en el predio.
- ▮ Con muestras enviadas al laboratorio Lidiveco dieron resultados nuevos como positivos 6 bovinos a Brucelosis.
- ▮ Producto de la entrevista con el ganadero las enfermedades más comunes en las ganaderías fueron la Piroplasmosis y Anaplasmosis con un 88%, luego la Hematuria Enzootica Bovina con 71%, la Mastitis con un 46%, las Infertilidades lo resaltaron como una enfermedad evidente teniendo el 62% este problema, la diarrea en terneros con 40% y cojeras en bovinos en un 33%.

8. RECOMENDACIONES

1. Las instituciones gubernamentales y no gubernamentales como el SEDEPRO, DESARROLLO PRODUCTIVO, FEDERACION DE GANADEROS Y SENASAG, deben emprender campañas educativas tendientes a mejorar controles de las diversas enfermedades que se puede diagnosticar y poder controlar.
2. Prevenir enfermedades realizando diagnósticos en cada ganadería problema y enviando muestras a laboratorios confiables.
3. Realizar un plan sanitario adecuado en las ganaderías para prevenir enfermedades que sean diagnosticadas.
4. Realizar nuevas investigaciones de enfermedades como Leptospirosis Bovina, para saber su porcentaje de prevalencia existe el predio palma seca.
5. Eliminación temprana de animales que tenga problemas de orina de sangre, de abortos, etc, con el fin de no contaminar el resto de animales.

9. BIBLIOGRAFIA

- ALTON, 1988; SUTHERLAND, 1990. Enfermedades de los bovinos. Diagnóstico *Tratamiento Control*. 2 edición., p 859.
- BARRAGÁN, G. (2006). Revista universitaria, Edit. Universitaria; Loja –Ecuador.
- BLOOD.D.C; HENDERSON. J. (1992). *Brucelosis. Medicina Veterinaria*.7aEd. Editorial Interamericana-México. 729-735 pp.
- SZYFRES BORIS 2003. *Brucelosis, interpretación del diagnóstico serológico, IICA/SENASA.* Recuperado de (<http://www.cdvs.com.ar/Images/pdf/BRUCELOSIS.pdf>)
- CONTRERAS, J. (1996) *Brucelosis. Enfermedad de los Bovinos causada por Agentes Virales, Bacterias, Rickettsiales y Protozoarias: Diagnóstico, Tratamiento y Control*. Segunda Edición. Barquisimeto- Venezuela, 405-420 pp.
- JER, A y otros 2003. *Diagnostico serológico (ELISA-C) de la brucelosis bovina*. Revista biomédica. México.
- CÍA-CARRILLO, C. (1987). *La brucelosis de los animales en América y su relación con la infección humana*. Off. Inter. Epizoot. Paris, France 303.
- LLERENA. B. F. (1990). *Prevalencia de Brucelosis en bovinos del Cantón Balzar*. Tesis Doctoral. Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Gye. Ec
- MAG-SESA, (1999). *Prevención y control de la brucelosis bovina en el Ecuador. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.*
- MARTÍNEZ S., VICENTE.(1977). *Realizo el trabajo titulado: Investigación de Brucelosis Bovina en el Cantón Zaruma por el método de Huddleson*. Tesis, Med. Vet. Loja, Ecuador, Universidad, Facultad de Agronomía y Veterinaria.

MARIÑO, O. C; GALLEGO, M. I. (1990). Sedano, L.; Almansa, J. E. *Comparación de técnicas serológicas en la evaluación de bovinos infectados naturalmente por Brucella abortus*. Revista ACOVEZ 14(1):2732.

NIELSEN, K. 2002. *Diagnostico serológico de Brucelosis*. Microbiología Veterinaria. USA.

NIETO. R. E. (1981). *Investigación diagnostica de Brucelosis en las ganaderías bovinas de los cantones Santa Rosa y Arenillas de la provincia de El Oro*. Tesis (Dr. Med. Vet. Zoot.) Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ec.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD FAO/OMS. (1994). *Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Trasmisibles y Zoonosis*. Publicación Científica 288- 78 pp.

PIÑATE PEDRO. 2008. Las Vacunas contra la Brucelosis Bovina. Recuperado de <http://agronotas.wordpress.com/2008/09/30/brucelosis- bovina>

RUIZ, P. O; CARRIÓN, T. J (1982). *Investigación diagnostica de Brucelosis en las ganaderías bovinas de los cantones Zaruma y Portovelo de la provincia de El Oro*. Tesis (Dr. Med. Vet. Zoot.) Universidad Técnica de Machala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ec.

ANEXOS

ANEXO 1. Resultados de Laboratorios por la pruebas de Rosa de Bengala**Nombre del investigador:** Carlos Alberto Burgos Achaval.

RESULTADOS DE LABORATORIO						
N° MUESTRA	NUMERO/ ARETE	SEXO	ESPRCIE	EDAD / AÑOS	METODO	RESULTADO
1	1	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	POSITIVO
2	FOMS	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
3	10	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
4	10-12	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
5	5	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
6	MOCHA B	Hembra	BOVINO	10	SAR-RB	NEGATIVO
7	6	Hembra	BOVINO	7 A.	SAR-RB	NEGATIVO
8	8	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
9	20	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
10	9	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
11	24	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
12	3	Hembra	BOVINO	10	SAR-RB	NEGATIVO
13	10-28	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
14	10-79	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
15	17	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
16	7 GRANIZADA	Hembra	BOVINO	9	SAR-RB	POSITIVO
17	21	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
18	10-15	Hembra	BOVINO	10	SAR-RB	NEGATIVO
19	127	Hembra	BOVINO	10	SAR-RB	NEGATIVO
20	19	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
21	130	Hembra	BOVINO	10	SAR-RB	NEGATIVO
22	171	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	POSITIVO
23	172	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
24	173	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
25	174	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
26	175	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
27	176	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
28	177	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
29	178	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	POSITIVO
30	179	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
31	180	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
32	181	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
33	133	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
34	182	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
35	183	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO

36	184	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
37	185	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
38	186	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
39	187	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
40	188	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
41	189	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
42	190	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
43	191	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
44	192	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
45	193	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
46	194	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
47	195	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
48	196	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
49	108	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
50	197	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
51	58	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
52	198	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
53	88	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
54	199	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
55	83	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
56	200	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
57	201	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO
58	202	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
59	203	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
60	204	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO
61	205	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
62	142	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
63	206	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
64	207	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
65	208	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
66	209	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	POSITIVO
67	18	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
68	210	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
69	26	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	POSITIVO
70	211	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
71	212	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
72	7	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
73	213	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO
74	214	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
75	215	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
76	216	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
77	217	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
78	218	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
79	219	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO

80	220	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
81	221	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
82	36	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
83	222	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
84	13	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO
85	152	Hembra	BOVINO	2,5	SAR-RB	NEGATIVO
86	223	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
87	224	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
88	225	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
89	23	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
90	226	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
91	227	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
92	228	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
93	229	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
94	230	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
95	231	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
96	232	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
97	233	Hembra	BOVINO	3	SAR-RB	NEGATIVO
98	234	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
99	55	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
100	235	Hembra	BOVINO	1,5	SAR-RB	NEGATIVO
101	236	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
102	237	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
103	238	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
104	239	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
105	240	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
106	241	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
107	242	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
108	243	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
109	244	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
110	245	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
111	246	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
112	247	Hembra	BOVINO	2	SAR-RB	NEGATIVO
113	248	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
114	249	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
115	250	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
116	251	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
117	252	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
118	253	Hembra	BOVINO	1	SAR-RB	NEGATIVO
119	254	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
120	255	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
121	256	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	POSITIVO
122	257	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
123	258	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO

124	259	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
125	260	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO
126	261	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
127	40	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
128	42	Hembra	BOVINO	9	SAR-RB	NEGATIVO
129	262	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
130	263	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
131	264	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
132	265	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
133	266	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
134	267	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
135	268	Hembra	BOVINO	6	SAR-RB	NEGATIVO
136	269	Hembra	BOVINO	5	SAR-RB	NEGATIVO
137	270	Hembra	BOVINO	9	SAR-RB	NEGATIVO
138	271	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
139	272	Hembra	BOVINO	7	SAR-RB	NEGATIVO
140	273	Hembra	BOVINO	9	SAR-RB	NEGATIVO
141	274	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
142	275	Hembra	BOVINO	4	SAR-RB	NEGATIVO
143	138	Hembra	BOVINO	8	SAR-RB	NEGATIVO

ANEXO 2. Resultados de la muestra enviada al Laboratorio LIDIVECO

ANEXO 4. Fotografías sobre el trabajo de campo



MATERIALES UTILIZADOS



MATERIALES UTILIZADOS

Fotografía 1. Materiales



BOVINOS PARA EL MUESTREO SEROLOGICOS



BOVINOS PARA EL MUESTREO SEROLOGICOS

Fotografía 2. *Bovinos para el muestreo serológicos*



Fotografía 3. *Identificación de los animales*



Fotografía 4. *Toma de muestra sanguínea*



CONSERVACIO DE LAS MUESTRAS



CONSERVACIO DE LAS MUESTRAS

Fotografía 5. Conservación de las muestras de sangre.



CONSERVACION E IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS



CONSERVACION E IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS

Fotografía 6. Conservación e Identificación de las muestras.

Fotografía 7. Procesamiento y centrifugado de muestras serológicas

	
<p>PROCESAMIENTO Y CENTRIFUGADO DE MUESTRAS SEROLOGICAS</p>	<p>PROCESAMIENTO Y CENTRIFUGADO DE MUESTRAS SEROLOGICAS</p>

Fotografía 8. Envío de las muestras biológicas

	
<p>ENVIO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS AL LABORATORIO LIDIVECO</p>	<p>ENVIO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS AL LABORATORIO LIDIVECO</p>

Fotografía 9. Mapa del predio palma seca

