



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA

**EVALUACIÓN DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA BRUCELLA
ABORTUS EN BOVINOS LECHEROS**

“Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el
grado de Medio Veterinario y Zootecnista”.

AUTOR:

MONICA ABIGAIL SORIA ROJAS

TUTOR:

MARCO ROSERO PEÑAHERRERA

AMBATO-ECUADOR

2017

DECLARACION DE ORIGINALIDAD

“Yo MONICA ABIGAIL SORIA ROJAS, portadora de la cedula de identidad número 1803582962, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: “EVALUACIÓN DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS LECHEROS” es original, auténtico y personal.

En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.”

MONICA ABIGAIL SORIA ROJAS

DERECHOS DE AUTOR

“A presentar este Informe Final de Proyecto de Investigación titulado: “EVALUACIÓN DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS LECHEROS” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario y Zootecnista en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad. Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final o de parte de él.”

MONICA ABIGAIL SORIA ROJAS

AGRADECIMIENTOS

Mi principal agradecimiento va dirigido a Dios, quien ha sido parte fundamental de mi vida, quien ha guiado cada uno de mis pasos, brindándome oportunidades de crecer y ser una mejor persona siempre para si honra y en su nombre.

A la Universidad Técnica de Ambato por el apoyo brindado y por la oportunidad de ser parte de tan prestigiosa institución, a mi querida Facultad de Ciencias Agropecuarias, en donde pude conocer a personas que llegaron aportado un granito de arena a mi vida como amigos, compañeros, docentes, administrativos y autoridades; gracias por dejarme ser parte de este sueño que es llegar a ser una Médico Veterinaria.

A cada uno de mis docentes quienes siempre estuvieron prestos a cualquier inquietud y duda que se me presentaba en el día a día, fueron son y serán parte fundamental para mi formación académica y personal.

Agradeciendo a mis docentes Dr. Marco Rosero, tutor del trabajo de investigación el cual con su experiencia supo guiarme desde principio a fin. De igual manera al Dr. Efraín Lozada asesor de Biometría y al Dr. Roberto Almeida asesor de Redacción Técnica, por todas las recomendaciones y tiempo que prestaron para la culminación de este proyecto.

DEDICATORIA

El presente Proyecto de Investigación va dedicado a un ser omnipotente quien es el encargado de que mi carrera profesional este por culminar.

A todos los miembros de mi familia quienes son el motor primordial en mi vida y mi razón por la cual cumpla metas, en especial a mis padres quienes a pesar de muchas situaciones han permanecido en apoyo condicional para mi persona.

RESUMEN

La brucelosis bovina es una enfermedad que se presenta con preocupante frecuencia, aun sabiendo que esta es una enfermedad zoonótica, no se la ha estudiado a profundidad y mucho menos se ha logrado su erradicación.

Las pruebas de laboratorio más conocidas en nuestro país son Rosa de Bengala (RB) y ELISA competitiva (ELISA c), las cuales en la presente investigación fueron evaluadas mediante el cálculo de sensibilidad, especificidad y valores predictivos. De igual manera con el uso de las pruebas anteriormente nombradas se logró determinar datos de prevalencia real y aparente para brucelosis bovina.

Este ensayo se realizó en Salache, barrio que se encuentra ubicado a 3.849 msnm, perteneciente a la parroquia Eloy Alfaro del cantón Latacunga, en la provincia de Cotopaxi. En donde se tomaron muestras de sangre de 147 bovinos, dichas muestras fueron sometidas a Rosa de bengala, categorizada como prueba tamiz; una vez obtenidos los resultados aquellos falsos positivos, verdaderos positivos y falsos negativos se someterán a la prueba confirmatoria de ELISA c.

Conforme a los datos reflejados por el laboratorio se procedió a realizar los cálculos de sensibilidad y especificidad, siendo estos, para Rosa de Bengala (88.89% y 69%), y ELISA (88.89% y 0%); también se determinó los datos para el valor predictivo positivo, cual coincidió en las dos pruebas a 0.29, mientras el valor predictivo negativo fue para RB de 0.98 y de ELISA competitivo de 0.

Para esto se concluye que Rosa de Bengala al tener mayor especificidad que ELISA competitivo, se recomienda su uso cuando la población tiene una baja prevalencia de la enfermedad a tratar mientras que si conocemos la presencia de la misma y necesitamos evitar su contagio se usaría una prueba con mayor sensibilidad.

Palabras clave: ELISA c, Especificidad, Prevalencia, Rosa de Bengala, Sensibilidad.

SUMMARY

Bovine brucellosis is a disease that presents with worrying frequency, even knowing that this is an anthroozoonotic disease, has not been studied in depth and much less eradication has been achieved.

The most common laboratory tests in our country are Rose Bengal (RB) and competitive ELISA (ELISA c), which in the present investigation were evaluate the values of sensitivity, specificity and predictive values. Likewise with the use of the above mentioned tests, it was possible to determine data of actual and apparent prevalence of the event of interest.

This essay was carried out in Salache, a neighborhood that is located at 3.849 msnm, belonging to the parish Eloy Alfaro of the canton Latacunga, in the province of Cotopaxi. In which blood samples of 147 bovine were taken, these samples were submitted to Rose Bengal, categorized as screening test; once the results have been obtained those false positives, true positives and false negatives will be submitted to the ELISA c confirmatory test.

According to the data reported by the laboratory, the sensitivity and specificity calculations were performed, for Rose Bengal (88.89% and 69%) and ELISAc (88.89% and 0%); we also determined the data for the positive predictive value, which coincided in the two tests at 0.29, while the negative predictive value was for RB of 0.98 and competitive ELISA of 0.

For this it is concluded that Rose Bengal to have greater specificity than competitive ELISA, it is recommended its use when the population has a low prevalence of the disease to treat whereas if we know the presence of the same and we need to avoid its dissemination would be used a test with greater sensitivity.

Key words: ELISA, Prevalence, Rose Bengal, Sensitivity, Specificity

ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACION DE ORIGINALIDAD	I
DERECHOS DE AUTOR	II
AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA	V
RESUMEN.....	VI
SUMMARY	VII
ÍNDICE DE CONTENIDO	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
INDICE DE ANEXOS	XII
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II.....	3
MARCO TEÓRICO	3
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	3
2.2. MARCO CONCEPTUAL.....	7
2.2.1 Bovinos	7
- Generalidades.....	7
- Características	7
2.2.2. Enfermedades reproductivas en bovinos.....	8
2.2.3. Brucelosis bovina	8
- Etiología	8
- Epidemiología de Brucelosis.....	9
- Fuentes y vías de infección	9
- Síntomas.....	11
- Diagnóstico de Brucelosis.....	11
2.2.4 Pruebas diagnosticas	12

- Rosa de Bengala.....	12
- ELISA competitivo	12
2.2.5 Condiciones en el uso de pruebas diagnósticas.....	13
2.2.6 Características de las pruebas.....	13
- Sensibilidad y Especificidad	13
- Valor predictivo	14
- La tabla de contingencia.....	16
- Prevalencia	17
CAPÍTULO III.....	19
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	19
3.1 HIPÓTESIS.....	19
3.2 OBJETIVOS	19
3.2.1 Objetivo general.....	19
3.2.2 Objetivos específicos	19
CAPÍTULO IV	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	20
4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR.....	20
4.3. EQUIPOS Y MATERIALES.....	20
4.4. FACTORES DE ESTUDIO	21
4.5. TRATAMIENTOS.....	21
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	21
4.7. VARIABLE RESPUESTA	21
- Rosa de Bengala:.....	22
- ELISA-c:	23
4.8. PROCESAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	23
CAPITULO V.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
5.1 RESULTADOS.....	24
5.2 DISCUSION	27

CAPITULO VI	29
CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFIA Y ANEXOS	29
6.1 CONCLUSIONES	29
6.2 BIBLIOGRAFIA.....	30
6.3 ANEXOS.....	34
CAPITULO VII.....	43
PROPUESTA.....	43
7.1 DATOS INFORMATIVOS	43
7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	43
7.3 JUSTIFICACIÓN	43
7.4 OBJETIVOS	44
7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	44
7.6 FUNDAMENTACIÓN	44
7.7 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO	44
7.8 ADMINISTRACIÓN.....	45
7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	45

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.- TABLA DE CONTINGENCIA	17
TABLA 2: UBICACIÓN DE SALACHE	20
TABLA 3. VALORES DE SENSIBILIDAD ESPECIFICIDAD Y VALORES PREDICTIVOS PARA ROSA DE BENGALA Y ELISA C.	24
TABLA 4. PREVALENCIA REAL Y APARENTE CON LA PRUEBA ROSA DE BENGALA Y ELISA-C.....	26

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Extracción de Sangre.....	34
Anexo 2: Almacenamiento de Muestras, en hielera.....	34
Anexo 3: Posicionamiento de la cola del bovino.....	35
Anexo 4: Rotulación de Muestras tomadas.....	35
Anexo 5: Instalaciones y Manga para el manejo.....	36
Anexo 6: Posición del Veterinario para la toma de muestra.....	36
Anexo 7: Introducción de la Aguja a la vena coccígea.....	37
Anexo 8: Encaje del tubo tapa roja al vacutainer.....	37
Anexo 9: Resultados Rosa de Bengala 1.....	38
Anexo 10: Resultados Rosa de Bengala 2.....	39
Anexo 11: Resultados ELISAc (verdaderos positivos y falsos positivos).....	41
Anexo 12: Resultados ELISAc (falsos negativos).....	42

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El ganado bovino lechero es muy comúnmente afectado por la Brucelosis, una enfermedad infecciosa y altamente contagiosa; puede transmitirse entre casi todas las especies domésticas y es además zoonótica, es decir puede transmitirse al ser humano; dicha transmisión puede ser por contacto directo o por ingesta de productos lácteos frescos contaminados (Fernández y Díaz, 2003).

Este padecimiento tiene como agente etiológico la bacteria denominada *Brucella*, bacilos pequeños Gram negativos, siendo *B. Abortus*, la especie que afecta a los bovinos. Considerándose una de las enfermedades infectocontagiosas reproductivas más comunes, la Brucelosis se presenta a nivel mundial y su incidencia está directamente relacionada con la densidad de la población del ganado. Las manifestaciones clínicas y epidemiológicas de esta enfermedad se caracterizan por; la producción de abortos en estadios de gestación avanzados, aumento de la mortalidad de neonatos nacidos débiles y pérdida de reproductores de alto valor genético (OIE, 2012)

En nuestro país existe gran variación en cuanto a la presentación de la enfermedad, esta depende del área geográfica y el tipo de explotación. Esta es una de las razones por las cuales este mal persiste y se propaga. Además existen otros factores que dificultan la erradicación de la Brucelosis como la poca disponibilidad de laboratorios de diagnóstico, una inadecuada política de vigilancia epidemiológica y la falta de un programa efectivo de control y/o exterminio de esta enfermedad, a más de la completa desorganización de todos los sectores involucrados en la actividad ganadera (Paredes, 2012).

Dentro del territorio ecuatoriano, una de las zonas con mayor actividad ganadera, específicamente de producción lechera, es la zona 3, conformada por las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo y Pastaza. Entre estas destaca Cotopaxi, una de las más importantes dentro de los planes de desarrollo y fomento ganadero, basado en un

manejo adecuado y en la protección del equilibrio medioambiental (Agrocalidad; MAGAP, 2012).

La etapa reproductiva de la ganadería bovina se ve afectada por diversas causas tales como; factores nutricionales, genéticos, sanitarios, medioambientales y el manejo del ganado. Sin embargo, un factor poco estudiado en nuestro país es la sanidad animal, dentro de la cual el ganado se ve afectado por enfermedades reproductivas, las mismas que pueden influir en el óptimo comportamiento productivo de los animales. Los esfuerzos realizados en la lucha contra esta enfermedad resultan insuficiente ya que la brucelosis continúa siendo prevalente en diversas áreas del Ecuador (Paredes, 2012).

Por otro lado, la introducción de animales desde y hacia la zona centro, no siempre se ha realizado bajo rigurosas condiciones sanitarias, lo cual ha incidido en la propagación de diversas enfermedades reproductivas. Basada en estos antecedentes, la presente investigación tiene como finalidad determinar la prevalencia real y aparente de la Brucelosis en bovinos lecheros en el sector de Salache en la provincia de Cotopaxi, así como la evaluación de dos pruebas de laboratorio mediante valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de cada una de ellas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Investigaciones previas realizadas sobre pruebas para el diagnóstico de *Brucella* en algunas especies revelan diferentes valores de especificidad (Es) y sensibilidad (Se), y esto variará dependiendo el tipo de muestra y la metodología utilizada para el diagnóstico de la enfermedad.

Según Vera, (2013) la sensibilidad y especificidad de la prueba Rosa de Bengala (RB) son del 22% y 78% respectivamente frente a *Brucella* bovina, este estudio fue experimentado en 300 cabezas de ganado de la provincia de Manabí - Ecuador, de las cuales 234 fueron negativas y 66 positivas a la prueba.

Por su parte, Aparicio et al, (1999) utilizaron el antígeno Rosa de Bengala, a una concentración celular del 8% y un antígeno experimental, preparado a una concentración celular del mismo reactivo al 3%, para la determinación de la sensibilidad de la prueba se usaron 53 sueros caprino, mientras que, para determinar la especificidad se manipularon 100 sueros de caprinos negativos a brucelosis, de los cuales la sensibilidad del antígeno Rosa de Bengala al 8% fue del 79% y la del antígeno al 3% fue del 98% y la especificidad para los dos antígenos fue del 100%.

Aunque Cisterna et al. (2015) en un estudio similar, en donde procesaron un total de 1257 muestras de suero de caprinos no vacunados, provenientes de distintos establecimientos familiares de la región centro-norte de la República Argentina, obtuvieron como resultado con Rosa de Bengala al 8% de sensibilidad y especificidad de (83.93% ; 98.84%) y al 3% de (95.4% ; 98.63%). Por otro lado, (Ramirez et al. 2009) evaluó 534 muestras, de las cuales se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad para Rosa de Bengala al 3% de 99,7% y 32,5% respectivamente, si bien este último valor resultó extremadamente bajo, al combinar Rosa de Bengala con Polarización Fluorescente ascendió a 91,2%. De igual manera para caninos (Rojas et al. 2004), por

medio de la técnica ELISA-Indirecta (ELISA I), usando el antígeno de lipopolisacárido rugoso de *B. abortus*. Obtuvo una sensibilidad y especificidad de un 95,8% y 100% respectivamente.

Existen varias pruebas de laboratorio que han sido comparadas entre ellas por varios autores; como por ejemplo ELISA-competitivo (ELISA c) y Rosa de Bengala han sido estudiadas obteniendo una sensibilidad comparada del 6,44%; es decir; que solo el 6,44% de la prueba Rosa de Bengala coincidirá en predicciones positivas con ELISAc, esta investigación se realizó en 13.351 bovinos de ambos sexos (Maldonado et al. 2010) al igual que (Nielzen, 1998) quien en su investigación usó 1446 cabezas de ganado y (Mejia y Lemus, 2012) utilizó 50 sueros sanguíneos de hembras bovinas; presentan datos sin una diferencia relevante en cuanto a sensibilidad y especificidad; siendo estos de (94% ; 100%) y (96% ; 100%) respectivamente, de igual manera (Álvarez et al. 2015) analizó 92 muestras sanguíneas de humanos comparando a Rosa de Bengala y a PCR; reflejando una sensibilidad y especificidad comparada de 44.68% y 95.56%; mientras que comparando Rosa de Bengala con ELISA-I hay una disminución de sensibilidad del 4% en Rosa de Bengala y en especificidad ambos son iguales con un 100% (Mejia y Lemus, 2012).

La prueba de Rosa de Bengala es una buena prueba tamiz ya que muestra una sensibilidad del 100%, aunque su especificidad es baja, particularmente en animales vacunados, y para demostrarlo (Dájer et al.1995) realizó una investigación en donde 175 sueros se seleccionaron y se clasificaron en tres grupos y los valores revelados de sensibilidad y de especificidad fueron los siguiente: en animales no vacunados (93% ; 100%), vacunados (100% ; 99%) y animales de los cuales se desconoce información de vacunación (98% ; 100%).

Las ventajas respecto a la aplicación de Elisa-c, están su sensibilidad, especificidad y objetividad en la lectura. Además de que los costos de implementación han ido bajando debido a que los equipos pueden utilizarse para el diagnóstico de otras enfermedades, con la consecuente masificación de la técnica y capacitación del personal. El diagnóstico

en sí, se hace con bastante precisión, y para lograr diferenciar anticuerpos de infección de aquellos generados por cepa 19 (Nielzen, 1998).

Las múltiples comparaciones de técnicas inmunoenzimáticas realizadas con respecto a las convencionales, han demostrado la utilidad de la ELISA indirecta como prueba tamiz de elevada sensibilidad con respecto a la Rosa de Bengala (Mariño, 2000).

Para Rosa de Bengala (Ariza, 1999) menciona que es una prueba de aglutinación rápida muy eficaz, inicialmente utilizada como prueba de cribado al permitir una aproximación diagnóstica en pocos minutos. No obstante, la experiencia práctica acumulada le ha concedido un protagonismo que va más allá del correspondiente a una simple prueba de cribado. El medio ácido en el que se efectúa la prueba favorece considerablemente la expresión del componente aglutinante de los anticuerpos. Su sensibilidad y especificidad para identificar anticuerpos aglutinantes anti-*Brucella* son elevadas, de tal forma que solo excepcionalmente resulta negativa en la fase aguda de la infección y con muy poca frecuencia en las fases evolucionadas o crónicas de la enfermedad.

En otra investigación evaluada por (Paulin et al. 2009), se tomaron cuatro técnicas serológicas para el diagnóstico de infecciones causadas por *B. abortus* en 200 sueros de bovinos vacunados con cepa 19; presentando una sensibilidad relativa de ELISA con Rosa de Bengala de 93% y especificidad relativa del 98%. Aparico et al. (2003) realizó una evaluación serológica y bacteriológica de un hato bovino de 73 animales con brucelosis y revacunado con dosis de cepa 19, observando una similitud en resultados para Rosa de Bengala en donde su sensibilidad es de 96.8%, aun conociendo que esta prueba se caracteriza por una alta sensibilidad; al momento de diferenciar los animales vacunados de los infectados, su capacidad es mala; mientras que ELISA-c es muy capaz de diferenciarlos; en este estudio de igual manera menciona resultados de sensibilidad y especificidad relativas de las cuatro pruebas comparadas con Factor de Complemento fueron: Rosa de Bengala, 100% y 38%; 2-Mercaptoetanol, 90% y 99%; Rivanol, 86% y 100%; ELISA, 97% y 99%.

Abalos et al. (1998), en su estudio epidemiológico de *Brucella abortus* en Chile, calcularon la sensibilidad relativa de Rosa de Bengala comparado con ELISA (95.7%) y una especificidad relativa de (82.4%); también (Blasco et al. 1994) mencionan que la sensibilidad en Rosa de Bengala varía según los antígenos usados, en esta investigación se usaron 11 antígenos de Rosa de Bengala, en donde los valores de sensibilidad oscilan entre 85.9%-93.3%. Por su parte (Lottersberger et al. 2004) para su estudio se procesaron en total 1878 sueros bovinos y agrupados en dos paneles; de los cuales el segundo panel estaba constituido por 466 sueros fueron evaluados por Rosa de Bengala y Pruebas Complementarias denominando así a seroaglutinación en tubo (SAT) y SAT-2ME, en donde sus valores comparados son: una sensibilidad del 94,3% y una especificidad del 96,3%. En este ensayo también se ~~com~~ **com**paró la reactividad del ELISA frente a SAT-2ME presentando resultados sensibilidad obtenida fue del 95% y la especificidad del 94,2%.

Por último, por interés social se presenta la investigación de (Céspedes et al. 2002) en humanos, siendo evaluados 120 personas; 40 muestras de pacientes con sospecha clínica y con títulos positivos a microaglutinación, 80 muestras negativas; en su totalidad fueron evaluadas mediante ELISA, y se obtuvo una sensibilidad de 97,5% y especificidad de 98,75%. En México se muestreó a 92 personas de los municipios de Anáhuac mediante Reacción en Cadena de Polimerasa comparada con Rosa de Bengala obteniendo resultados de 44.68% para sensibilidad y 95.56% para especificidad (Álvarez et al. 2015).

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1 Bovinos

Antes de la llegada de los colonizadores españoles, la especie bovina no era conocida en la sierra ecuatoriana, por lo cual la leche que provenía de animales no era parte de la dieta de sus pobladores. Fue así como después de la llegada de bovinos españoles a colonias americanas, se dio origen al ganado criollo.

Sin embargo los ejemplares traídos de Europa además de que eran pequeños, tenían una escasa capacidad abdominal y poco desarrollo torácico; todo esto debido a las características del medio ambiente español, como sus suelos pobres, escasas de lluvia y factores que explicaban la falta de pasto como alimento para el ganado ibero.

Después del origen del ganado criollo junto a una abundante alimentación, se apreció un incremento en la producción lechera y cárnica, junto a un mejoramiento de características fenotípicas de la especie, dando como resultado razas como Holstein y Brown Swiss (Molina, 1985).

- Generalidades

Los bovinos pertenecen a la familia de los Bóvidos y al género *Bos*, estos son animales vertebrados, mamíferos, ungulados. Existen dos especies principales; *Bos taurus*, cuya principal característica es la ausencia de joroba y *Bos indicus* que por lo contrario posee joroba, un ejemplo claro es el cebú (Koslag, 1988).

- Características

Dependiendo de la genética del animal, las características principales partiendo desde la cabeza son: ojos grandes y brillantes, seguidos de unos ollares anchos y abiertos, acompañado de un puente de nariz recto. El cuello es largo y delgado, el mismo que esta insertado en las paletillas (Koslag, 1988).

De acuerdo a la raza, el tronco varía en su largo y profundidad, de igual manera la composición de sus costillas. La espalda y la grupa son rectas, largas, anchas y sin

irregularidades. Las patas poseen huesos finos, pero fuertes. Y las pezuñas, son naturaleza cornea constan de una placa gruesa y dura.

La piel y pelaje del ganado bovino, dependerá de las condiciones climáticas, es así que por ejemplo, el cebú se desarrolla en climas tropicales presentando pelo ralo y corto, mientras que, el ganado europeo posee su piel cubierta de un tipo lana (Koslag, 1988).

2.2.2. Enfermedades reproductivas en bovinos

Al hablar de enfermedades reproductivas, generalmente, se hace referencia a padecimientos de origen infeccioso, es decir, males inducidos por microorganismos como bacterias o virus. Enfocándonos específicamente en vacas lecheras, las principales afecciones que se observan son: leptospirosis, neosporosis, rinotraqueitis infecciosa, diarrea viral, y por último la brucelosis la cual será el enfoque de esta investigación.

En los casos en los que se presenta brucelosis, la hembra se ve afectada desde la gestación hasta el nacimiento del ternero, provocando pérdidas embrionarias, abortos, mortalidad perinatal y distinto grado de infertilidad (Senasa, 2012).

2.2.3. Brucelosis bovina

La brucelosis bovina es una enfermedad que se presenta con preocupante frecuencia, ocasionando, por lo tanto, pérdidas económicas considerables. Lamentablemente la erradicación de esta enfermedad, no se ha logrado por falta de planes contingencia, además del creciente tráfico de ganado (Ortiz y Acosta, 2012).

Siendo esta una enfermedad zoonótica, la mayoría de casos se presentan por exposición ocupacional a los animales infectados, además de la ingesta de productos lácteos contaminados (Ortiz y Acosta, 2012).

- Etiología

El agente etiológico de la Brucelosis bovina es la *Brucella abortus* una bacteria gran negativa, facultativa e intracelular que afecta la especie bovina.

Dicha bacteria posee un lipopolisacárido (LPS) inmunodominante, y cuenta con la capacidad de sobrevivir en el interior de células fagocíticas, aumentando su virulencia (Vega et al. 2008). Montes, (2002) menciona que existen hasta nueve biovariedades (1 a 9) de *B. abortus*, pero algunas de ellas solo presentan diferencias mínimas y su estatus no está resuelto.

En el ganado bovino la bacteria tiende a preferir alojarse en la placenta y órganos reproductores. La respuesta inmune frente a *B. abortus*, depende principalmente de la activación de la inmunidad mediada por células, capaces de destruir las células infectadas (Rivers et al. 2006).

La identificación de la superóxido dismutasa Cu/Zn de *B. abortus* (SOD), ha permitido el diseño de inmunización basado en componentes subcelulares, con bacterias atenuadas de *Brucella abortus* cepa 19 y cepa RB51, sin embargo no permite la erradicación completa del microorganismo patógeno (Rivers et al. 2006).

- **Epidemiología de Brucelosis**

Ariza, (1999), acota que la brucelosis es una enfermedad de distribución mundial, sin embargo en muchos países desarrollados se ha logrado erradicar, aunque la especie *B. melitensis* sigue siendo endémica en el área Mediterránea, Oriente y Latinoamérica. La zoonosis afecta desde el sector ocupacional hasta los consumidores de alimentos lácteos no controlados. En los últimos 15 años las declaraciones obligatorias han disminuido progresivamente, gracias a las campañas de inmunización sobre la brucelosis animal.

- **Fuentes y vías de infección**

Las personas más propensas a la enfermedad son aquellos que tienen contacto directo con el animal, como veterinarios, vaqueros, y familias de los trabajadores de campo, sin embargo, la población que consume los subproductos bovinos y alimentos en general que no hayan sido sometidos a control de sanidad, tienen la misma posibilidad de infección (Díaz, 2003).

Se recomienda esterilizar el material ginecológico y de trabajo veterinario en general antes y después de examinar un animal, como medida preventiva a infecciones de cualquier tipo (Duran, 2012).

- Vía digestiva

Epidemiológicamente es la vía de mayor cuidado, ya que los alimentos constituyen los vehículos de infección, los mismos que se contaminan a través de secreciones fetales y resto de placentas (Sanchez y Zamorano, 2011).

Cabe recalcar que la pasteurización de la leche y del calostro elimina eficientemente esta bacteria (Diaz, 2003).

- Vía transplacentaria

En el tercio final de la gestación, son visibles las lesiones generadas en la placenta y en el feto, el cual puede ser abortado o tener un nacimiento débil (Duran, 2012).

- Vía sexual

La transmisión por esta vía en el hato es debido a que el macho deposita el semen en la vagina de la hembra bovina, aunque se ha mostrado que la macrobiótica vaginal inhibe la *Brucella abortus*. La inseminación artificial es otro medio de infección, si el control de reproductores es ineficiente. En cuanto a embriones infectados la vaca no presentara riesgo, sin embargo si el embrión es completamente sano y es implantado en una vaca infectada, podrá ser infectado por la vía transplacentaria (Duran, 2012).

- Vía transfusión sanguínea

Para que se produzca la infección por esta vía, es estrictamente necesario que existan vectores naturales; y se debe llevar un control sanitario de los animales que serán utilizados como donadores de sangre (Sanchez y Zamorano, 2011).

- **Síntomas**

El signo principal de la brucelosis bovina es el aborto pasado el quinto mes de gestación. En las hembras se produce retención de placenta y metritis, seguida de infertilidad. En machos se observa orquitis y epididimitis, con la posibilidad de esterilidad (Díaz, 2003).

En el caso de los enfermos portadores asintomáticos, las manifestaciones en vacas y toros son diferentes, por un lado, la reducción de la producción de leche y por otro lado una deficiente calidad de semen (Vega et al. 2008).

- **Diagnóstico de Brucelosis**

La infección de *Brucella abortus* va seguida de la formación de anticuerpos tipos IgM, declinando rápidamente, mientras que IgG tiende a permanecer alto mientras el animal este infectado, y muchas veces es el único anticuerpo detectable (Lottersberger et al. 2004).

Existen diversas pruebas para el diagnóstico de brucella, SAT y SAT con 2-mercaptoetanol (SAT-2ME), también con sueros reactivos la prueba de aglutinación a pH ácido (BPA). La técnica de referencia internacional es la Fijación del Complemento (FC). La OIE, sugiere que las pruebas complementarias son menos sensibles y específicas que otras pruebas serológicas (como FC o ELISA), las cuales serían una herramienta de mucha importancia para el diagnóstico serológico de la brucelosis (Lottersberger et al. 2004).

Además de detectar y cuantificar los anticuerpos IgG, IgM, ELISA detecta el anticuerpo IgA, esta prueba es más sensible y específica que SAT y se recomienda en áreas endémicas y en individuos con recidivas de la enfermedad (Vega et al. 2008).

Para la prevención de esta enfermedad; en el Ecuador los hatos bovinos son sometidos a estudios para determinar su estado sanitario. Para evitar la interferencia de anticuerpos vacunales en el diagnóstico de los animales adultos, las hembras jóvenes se vacunan

entre los 3 y 10 meses de edad y en el 95% de los casos estos anticuerpos desaparecen antes de los 18 meses de edad (Lottersberger et al. 2004).

2.2.4 Pruebas diagnosticas

- Rosa de Bengala

En esta prueba diagnóstica de carácter cualitativo, se añade el colorante rosa de bengala a una suspensión bacteriana, en conjunto con el suero del paciente, lo cual proporciona una aproximación o aglutinación diagnóstica con una sensibilidad y especificidad muy altas. Se presenta una semejanza con la seroaglutinación y es útil como prueba de tamizaje, tomando en cuenta que en los falsos negativos están incluidos los enfermos de pocos días de evolución y algunos de curso muy prolongado (OIE, 2012).

Dicha suspensión bacteriana es reactiva a inmunoglobulina tanto G como M, siendo la IgG detectada más precozmente, (Ortiz y Acosta, 2012) la aglutinación visible en las muestras ensayadas, determina un diagnóstico de enfermedad (OIE, 2012).

Mundialmente Rosa de Bengala es conocida como una prueba tamiz; según la (OMS, 2011) el tamizaje se define como “el uso de una prueba sencilla en una población saludable, para identificar a aquellos individuos que tienen alguna patología, pero que todavía no presentan síntomas”, y determina que el tamizaje es una acción preventiva para identificar pacientes para una intervención especial, esto lo corrobora (Jaramillo y Martinez, 2010) ya que menciona que este tipo de prueba es aplicada a poblaciones aparentemente sanas, para detectar infección o enfermedad subclínica.

- ELISA competitivo

La prueba de inmunoabsorción indirecta ligada a enzimas (ELISA) es de carácter cuantitativo, la cual puede detectar anticuerpos de inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA frente al lipopolisacárido de la bacteria, generalmente esta prueba diagnóstica es más sensible y específica que la aglutinación en tubos, (Ariza J., 1992) es por eso que esta prueba se denomina como prueba confirmatoria; es decir que mediante esta prueba se

afirma la presencia de la enfermedad en el individuo, y este resultado es considerado como definitivo (Jaramillo y Martínez, 2010).

El mecanismo de acción de ELISA competitivo permite que el anticuerpo monoclonal reconozca al antígeno siendo este el lipopolisacárido S y compita por la unión en la placa. Se consideran positivos aquellos sueros con un porcentaje de inhibición mayor del 28% (Castro et al. 2005).

2.2.5 Condiciones en el uso de pruebas diagnósticas

Para sustentar una decisión médica el profesional debe tener conocimiento extenso sobre la enfermedad a tratar, experiencia de campo y pensamiento lógico. La combinación de estas características facilita el diagnóstico, tratamiento y acciones preventivas tanto de manera individual como a nivel poblacional (Jaramillo y Martínez, 2010).

Existen una variedad de pruebas diagnósticas con el fin de:

- Detectar agentes patógenos responsables de enfermedades.
- Evaluar estado de infección.
- Estimar el porcentaje de individuos positivos a la enfermedad.

2.2.6 Características de las pruebas

La valorización de una prueba de laboratorio requiere el cálculo de varias características:

- Sensibilidad y Especificidad

- Sensibilidad

Es la capacidad de una prueba de laboratorio para detectar la enfermedad (Casal y Fabrega, 1999) interpretando la proporción de pacientes positivos a la prueba diagnóstico. En otras palabras, (Bravo y Cruz, 2015) menciona que la sensibilidad son los verdaderos positivos identificados por la prueba del total de individuos enfermos, y se lo calcula de la siguiente manera:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP+FN} * 100$$

En donde VP(verdadero positivo) y FN (Falso Negativo)

- Especificidad

Arango 2009 dice que la especificidad es la probabilidad de que para un paciente sano se obtenga un resultado negativo. Cabe recalcar que la especificidad, es la proporción de verdaderos negativos correctamente identificados por la prueba o test, dentro del total de individuos sanos (Bravo y Cruz, 2015), calculado así:

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN+FP} * 100$$

En donde VN(verdadero negativo) y FP (Falso Positivo)

Una vez definidos estos parámetros, y para un mejor entendimiento, se cita un caso de (Bravo y Cruz, 2015):

La citología cérvico uterina como prueba de tamizaje para la detección de cáncer de cuello uterino, tiene una muy alta especificidad y una baja sensibilidad, ya que este tipo de cáncer tiene una baja prevalencia se busca una prueba con mayor especificidad que sensibilidad, pues se pretende evitar falsos positivos.

Sin embargo, si el objetivo de la prueba es evitar la transmisión se buscaría una con mayor sensibilidad (Bravo y Cruz, 2015).

- **Valor predictivo**

La probabilidad de que una prueba entregue un diagnóstico correcto ya sea positivo o negativo dependerá de los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) (Jaramillo y Martinez, 2010).

- Valor predictivo positivo:

El valor predictivo positivo se estima a partir de la proporción de pacientes positivos a la prueba, que finalmente resultaron estar enfermos, (Tarabla, 2008), entonces es la proporción de pacientes positivos a la prueba que efectivamente tienen la condición (Bravo y Cruz, 2015) y se calcula a partir de:

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP}$$

En donde VP (verdadero positivo) y FP (Falso Positivo)

- Valor predictivo negativo:

El valor predictivo negativo se estima a partir de la proporción de pacientes negativos a la prueba, que finalmente resultaron estar realmente sanos, (Tarabla, 2008) de igual manera es la probabilidad de que el individuo no tenga la condición luego de que la prueba revela un negativo para (Bravo y Cruz, 2015) y esta característica se estima a partir de:

$$VPN = \frac{VN}{FN+VN}$$

En donde VN (verdadero Negativo) y FN (Falso Negativo).

Cabe recalcar que para el cálculo de dichas características se debe realizar una tabla de contingencia, la misma que será explicada a continuación:

- **La tabla de contingencia**

La Tabla.1 tiene un diseño de 2x2, en donde las columnas corresponden a la presencia o ausencia de síntomas de acuerdo a la anamnesis, mientras que las filas a los individuos positivos o negativos a la prueba diagnóstica (Jaramillo y Martinez, 2010).

Cada una de estas celdas corresponde a:

- Verdadero positivo VP o “a”: el paciente tiene la enfermedad y el test es positivo
- Falso positivo o FP “b”: el paciente no tiene la enfermedad, pero el resultado del test es positivo.
- Falso negativo FN o “c”: el paciente tiene la enfermedad, pero el resultado del test es negativo.
- Verdadero negativo VN o “d”: el paciente no tiene la enfermedad y el test es negativo (Jaramillo y Martinez, 2010).

TABLA 1.- TABLA DE CONTINGENCIA

		POBLACION	
		Con la enfermedad	Sin la enfermedad
RESULTADO DE LA PRUEBA	POSITIVO +	Tiene la enfermedad Tiene la prueba positiva =Verdadero Positivo (VP o A)	NO tiene la enfermedad Tiene la prueba positiva = Falso Positivo (FP)
	NEGATIVO -	Tiene la enfermedad Tiene la prueba negativa =Falso Negativo (FN)	NO tiene la enfermedad Tiene la prueba negativa = Verdadero Negativo (VN)

Fuente: (Galvan, 2009)

- **Prevalencia**

Clínicamente es el mejor estimador de la probabilidad de que un animal tenga el evento de interés o la enfermedad, aunque es una medida epidemiológica para cuantificar la presencia de la enfermedad en una población, en un punto del tiempo, sin importar si son casos nuevos o viejos.

Sin embargo, dicha prevalencia puede ser aparente o real, siendo sus valores calculados mediante la tabla de contingencia (Jaramillo y Martinez, 2010).

- Prevalencia Aparente

Esta prevalencia valora todos los individuos positivos, usando la prueba tamiz para medir el evento de interés. Calculada de la siguiente manera: (Jaramillo y Martinez, 2010)

$$PA = \frac{VP+FP}{N} * 100$$

En donde VP (verdadero positivo), FP (Falso Positivo) y N número de muestra

- Prevalencia Real

Proporción de individuos verdaderamente enfermos clasificados con la prueba de oro, para calcular la prevalencia real se utiliza la siguiente formula: (Tarabla, 2008).

$$PR = \frac{VP+FN}{N} * 100$$

En donde VP(verdadero positivo) y FN (Falso Negativo)

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS

Las pruebas diagnósticas son confiables para la detección de *Brucella abortus* en bovinos lecheros.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo general

Evaluar pruebas diagnósticas para *Brucella abortus* en bovinos lecheros.

3.2.2 Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de especificidad y sensibilidad de las pruebas ELISA y Rosa de Bengala.
- Evaluar las Pruebas de ELISA y Rosa de Bengala
- Establecer valores de prevalencia real y aparente.

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El experimento se realizará en el barrio Salache, provincia de Cotopaxi:

TABLA 2: UBICACIÓN DE SALACHE

Salache	
Latitud:	0° 56' 0" S 78° 37' 0" O
Altitud:	3849 m.s.n.m
Zona Horaria:	UT- 5:00

Elaborado por: Abigail Soria Rojas

4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

Salache se encuentra ubicado a 3 849 msnm, perteneciente la parroquia Eloy Alfaro del cantón Latacunga, en la provincia de Cotopaxi; dicho cantón cuenta con una superficie territorial de 1377 Km². El clima es templado seco con una temperatura promedio de 2 a 14 ° C , con una media anual de 11° C.

4.3. EQUIPOS Y MATERIALES

- Vacunos hembras de raza Holstein y Jersey de peso y edad variable.
- Prueba de Laboratorio ELISA
- Prueba de Laboratorio Rosa de Bengala
- Agujas multi-muestra 21 G x 1"
- Tubos hematológicos tapa roja de 10 ml
- Algodón

- Alcohol
- Vacutainer

4.4. FACTORES DE ESTUDIO

- Prueba de laboratorio ELISA
- Prueba de laboratorio Rosa de Bengala
- Bovinas Hembras

4.5. TRATAMIENTOS

Para el desarrollo experimental se tiene dos pruebas de diagnóstico para ser utilizada en cada cabeza de ganado.

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

La presente investigación no es compatible con un diseño experimental, en este caso, se aplicará un análisis epidemiológico para determinar por medio de cálculos la especificidad, sensibilidad, valores predictivos de cada una de las pruebas junto a la prevalencia real y aparente de Brucelosis en el sector de Salache.

Se analizaron 147 muestras de sangre, provenientes de las unidades experimentales, estas muestras fueron sometidas a la prueba tamiz que es Rosa de bengala. Aquellas muestras falsas positivas, verdaderas positivos y falsos negativos se someterán a la prueba confirmatoria de ELISA.

4.7. VARIABLE RESPUESTA

Se evaluó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y positivo de las pruebas diagnósticas al igual que la prevalencia real y aparente de la enfermedad tratada.

La población total de la hacienda del sector de Salache es de 147 bovinos; las cuales participaron en el presente estudio en su totalidad, con ayuda de los técnicos y personas encargadas de los animales de la hacienda, se reunió al hato para que una por una puedan entrar a la manga, lo primero que se realizó en los pacientes fue la revisión

clínica y registro los datos anamnésticos de cada una de ellas; después se procedió a la toma de muestras; en dónde; por cada animal se necesitó una aguja junto al vacutainer y un tubo tapa roja para almacenarla.

La muestra de sangre se la tomó de la vena coccígea, de la siguiente manera; primero se inmovilizó la cola del paciente y llevándola hacia dorsal y para poder visualizar la vena, con la mano libre, localizar por palpación la vena en la línea media, justo caudal de la inserción de los pliegues de la piel de la cola a nivel del espacio entre las vértebras coccígeas. Cuando se ha identificado la vena, insertamos la aguja ya ajustada en el vacutainer y después el tubo tapa roja se encaja para que este se llene de sangre; todo este proceso se repitió en cada uno de los pacientes.

Las muestras recolectadas se mantuvieron a baja temperatura, dentro de una hielera, con gel congelado para el transporte de vacunas. Una vez terminada la recolección de muestras, estas se llevaron inmediatamente al laboratorio y se solicitó que se realice las pruebas Rosa de Bengala como tamiz y Elisa competitivo como prueba confirmatoria a las que resultaron positivas y a los falsos negativos a la prueba tamiz.

Las técnicas o procedimientos de las pruebas de laboratorio varían según su método de trabajo, en este caso estos fueron los siguientes:

- Rosa de Bengala:

Anteriormente se mencionó el fundamento de esta prueba, cuyo pH bajo del antígeno colabora a la aglutinación de los anticuerpos IgG; El procedimiento de esta prueba consiste en colocar 30 µl del suero problema en una placa de vidrio, seguido por 30 µl de antígeno cerca del suero; con un mezclador combinar el suero y antígeno, inmediatamente rotar suavemente la placa de vidrio, en forma manual o mecánica con una velocidad de rotación de 10-12 movimientos por minuto, después de cuatro minutos interpretar la prueba, lo que significa positivo si existe aglutinación y negativo si no existe la misma (Cultek, 2006).

- **ELISA-c:**

Esta prueba diagnóstica esta denominada como una de las más populares como confirmatoria. Se utiliza una placa de micro titulación recubierta con antígeno no infeccioso S-LPS de *Brucella abortus*; a esta placa se le añade un substrato conjugado de peroxidasa con anticuerpos IgG, al igual con anticuerpos monoclonales, una vez adherido lo anterior, se realiza un lavado con solución PBS-Tween, y se añade tetrametilbenzidina junto a una solución de parada de ácido sulfúrico (Cultek, 2006).

Después del proceso de impregnación se realiza la lectura visual o colorimétrica entonces si hay diferencia en las lecturas, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno en la muestra (Cultek, 2006).

Una vez que el laboratorio tiene los resultados de las pruebas diagnósticas se realizaron los cálculos pertinentes para valorar cada una de ellas, es decir, se determina la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo y la prevalencia real y aparente.

4.8. PROCESAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

Para el procesamiento de la información se utilizará el programa MICROSOFT EXCEL: MAC (2011).

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 RESULTADOS

Este estudio se realizó en 147 cabezas de ganado; las cuales son sometidas a la prueba Rosa de Bengala y después de obtener los valores positivos o negativos a Brucella por medio de esta prueba tamiz; procedimos a la confirmación con la prueba Elisa competitivo, y los resultados son los siguientes:

TABLA 3. VALORES DE SENSIBILIDAD ESPECIFICIDAD Y VALORES PREDICTIVOS PARA ROSA DE BENGALA Y ELISA C.

Prueba		Enfermos	No enfermos	VP+	VP-	Se	Es
Rosa de Bengala	positivo	16	40	0.29	0.98	89.00	69
	negativo	2	89				
Elisa	positivo	16	40	0.29	0.00	88.89	0,00
	negativo	2	0				
*VP+= Valor Predictivo Positivo. VP-= Valor Predictivo Negativo. Se=Sensibilidad. Es= Especificidad.							

Elaborado por: Abigail Soria Rojas

Rosa de bengala como prueba de tamiz presenta una Especificidad (69%) que es muy baja lo que indica que de cada 100 animales negativos solo 69 van a ser clasificados como verdaderos negativos, por otro lado la Sensibilidad (89%) es alta eso quiere decir que de cada 100 animales positivos 89 van a ser clasificados como verdaderos positivos.

Elisa competitivo como prueba de oro o confirmatoria, epidemiológicamente hablando, en este estudio tiene un 88.89% de (Se) que es la cantidad de animales que van a ser clasificados como verdaderos positivos. Por otro lado la (Es) 0% determina los verdaderos negativos; tomando en cuenta que esta prueba se la utilizo en los verdaderos positivos y falsos positivos además de los falsos negativos a la prueba de tamiz.

La probabilidad de que un individuo con resultado positivo a la prueba este realmente enfermo es la misma para las dos pruebas VP+(0.29) mientras que la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo a la prueba esté verdaderamente sano, tiene resultados para Rosa de Bengala de 0.98 y ELISAc de 0.

Rosa de Bengala y ELISAc se evaluaron al estudiar 147 bovinos de los cuales para RB 56 fueron positivas y 91 negativos; en donde 40 se clasifican como falsos positivos y 16 como verdaderos positivos; 2 como falsos negativos y 89 como verdaderos negativos. Y para ELISAc se tomaron en cuenta los resultados falsos positivos, verdaderos positivos y falsos negativos, obteniendo valores de 40 animales como falsos positivos y 16 como verdaderos positivos; 2 como falsos negativos y 0 verdaderos negativos. Después de un análisis profundo a todos los datos revelados anteriormente RB se determina como prueba diagnóstica cuando se tiene una baja prevalencia y ELISAc cuando se quiere evitar su contagio.

TABLA 4. PREVALENCIA REAL Y APARENTE CON LA PRUEBA ROSA DE BENGALA Y ELISA-C.

N	Prueba		Enfermos	No enfermos	PR(%)	PA(%)
147	Elisa	positivo	16	40	12.24	
		negativo	2	0		
	Rosa de Bengala	positivo	16	40		
		negativo	2	89		
*PR= Prevalencia Real. PA=Prevalencia Aparente						

Elaborado por: Abigail Soria Rojas

La proporción de individuos que son positivos a la prueba de tamiz en este caso Rosa de Bengala corresponde a la PA(38.1%) mientras que la proporción de individuos verdaderamente enfermos clasificados con la prueba de oro es decir ELISA, lo cual corresponde a PR(12.24%). Cualquiera de las dos prevalencias se modifican ya que éstas varían por la sensibilidad y la especificidad de las pruebas por la cantidad de falsos negativos.

5.2 DISCUSION

Los resultados de esta investigación mediante el cálculo de sensibilidad y especificidad para ELISA y Rosa de Bengala fueron de (88.89% y 0%) y (88.89% y 69%) respectivamente. A pesar de que las condiciones climáticas sean distintas en otras investigaciones al igual que manejo del ganado y el método de toma de muestra, los resultados tienen relación con Vera (2013), evaluó el tamaño de muestra experimental de 300 unidades bovinas criollas, en donde 66 fueron positivas a la prueba mientras 234 dieron negativas a la misma; mediante fórmulas en donde no es necesario el uso de la tabla de contingencia reveló una sensibilidad de 22% y una especificidad de 78%; los valores tienen una gran diferencia ya que al incluir valores de falsos positivos y negativos al igual que verdaderos negativos y positivos como se hizo en la presente investigación se podría decir que los valores obtenidos en este estudio son más precisos. Para la misma prueba clasificada como prueba tamiz los valores de sensibilidad y especificidad de esta investigación se comparan de los reportados por (Vega et al. 2008) (99%y40%); (Dájer et al. 1995) sensibilidad del 100%; (Ramirez et al. 2009) (99.7%y32.5%), en donde los valores claramente no van a ser exactos pero tenemos concordancia ya que la sensibilidad de la prueba para estos 3 autores es mayor al 50%; sin embargo para la especificidad no es de la misma manera, y conociendo que la especificidad valora la proporción de verdaderos negativos se puede decir que la principal razón por la que en las investigaciones mencionadas anteriormente presentan valores de especificidad bajos es porque los autores usaron animales vacunados poco antes de la toma de muestra de sangre entonces Rosa de Bengala lo clasifica como positivos sean falsos o verdaderos pero nunca como un verdadero negativo.

A la prueba de oro o confirmatoria en esta investigación se ha nominado a ELISA competitivo, por lo tanto, solo los resultados falsos positivos, falsos negativos y falsos negativos a la prueba tamiz se les sometió a ELISA; en la cual se corroboró los resultados reflejados por Rosa de Bengala, en donde los valores de sensibilidad y especificidad fueron de 88.89% y 0% respetivamente. Datos que varían significativamente en información revelada por algunos autores como por ejemplo

(Céspedes et al. 2002) en su estudio realizado en 120 humanos obtuvo una sensibilidad de 97% y una especificidad de 98.75%; los datos comparados con los de la investigación varían poco en cuanto a sensibilidad y es mucho más marcado en la especificidad ya que en el estudio antes mencionado valora tanto enfermos y no enfermos mientras que es esta investigación para valorar ELISA solo constaron los falsos positivos, verdaderos positivos junto a los falsos negativos para Rosa de Bengala. Es por eso que también en comparación con lo que mencionan (Dájer et al. 1995)(97% 99%), (Abalos et al. 1998)(95.7% y 82.4) y (Lottersberger et al. 2004) (99.4%y99%) tenemos una diferencia significativa en especificidad y lo podemos sustentar ya que este parámetro es la proporción de individuos con ausencia de la condición o enfermedad.

Con la literatura presentada y con los datos reflejados durante la investigación se llega a término mencionando que tanto Rosa de Bengala como ELISA, son buenas pruebas diagnósticas para brucelosis bovina, recordando las características de las mismas, para así poder seleccionar el mejor test y llegar a un progreso no solo del paciente sino también incluyendo a la población en general. Entonces se debería usar Rosa de Bengala cuando la prevalencia de la enfermedad es baja, mientras que si conocemos la presencia de la misma y necesitamos evitar su contagio se usaría una prueba con mayor sensibilidad.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFIA Y ANEXOS

6.1 CONCLUSIONES

- Las pruebas diagnósticas evaluadas para *Brucella abortus* fueron Rosa de Bengala y Elisa competitivo.
- Se evaluó la prueba Rosa de Bengala como prueba tamiz siendo esta recomendada cuando la prevalencia de la enfermedad es baja y ELISA como prueba confirmatoria al tratar de evitar su contagio.
- El porcentaje de especificidad y sensibilidad fueron determinadas, en donde Rosa de Bengala y ELISA no tuvieron diferencia en cuanto a sensibilidad, mientras que la prueba tamiz resulto con mayor especificidad.
- Se estableció los valores de prevalencia real calculada con la prueba confirmatoria mientras que la prevalencia aparente se calculó con la prueba tamiz, siendo esta mayor casi tres veces que la prevalencia real.

6.2 BIBLIOGRAFIA

- Abalos, P., Pinochet, L., Ibarra, L., & Navia, F. (1998). Use of an indirect enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis and epidemiological studies of *Brucella abortus* in Chile, 49.
- Agrocalidad; MAGAP. (2012). Manual de manejo bovino.
- Álvarez, M., Saldaña, C., & Ballesteros, M. (2015). Comparación de las pruebas: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), serología y hemocultivo con respecto a sensibilidad y especificidad, para la detección de *Brucella* spp en muestras humanas. *Pub Med*.
- Aparicio, E. D., Blasco, J., & Suarez, F. (1999). Prueba de tarjeta modificada para el diagnóstico de la brucelosis caprina, 30(4), 307–311.
- Aparico, A., Dias, E., Hernandez, L., Perez, R., Alfonseca, E., & Suarez, F. (2003). Evaluación serológica y bacteriológica de un hato bovino con brucelosis y revacunado con dosis reducidas de *Brucella abortus*, 129–140.
- Ariza, J. (1999). Brucelosis: Aspectos actuales de principal interes 1–7.
- Blasco, B., Garin, C., Marin, G., Gerbier, J., Fanlo, M., & Jimenez, C. (1994). Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for diagnosis for *Brucella melitensis*.
- Bravo, S., & Cruz, J. (2015). Estudios de exactitud diagnóstica : Herramientas para su Interpretación, 21(1), 158–164.
- Casal, J., & Fabrega, E. (1999). Problemas de epidemiologia Veterinaria. España.

- Castro, H., Gonzales, S., & Prat, M. (2005). Brucelosis: una revision practica. *Scielo*, 203–216.
- Céspedes, M., Glenn, M., Felices, V., Balda, L., & Suárez, V. (2002). Prueba de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico de leptospirosis humana.
- Cisterna, C., Conde, S., Hollender, D., Martino, P., & Samartino, L. (2015). Diagnostico Serologico de Brucelosis en caprinos: Comparacion de tecnicas. *Scielo*, 2.
- Cultek, P. (2006). Fundamentos y Tipos de ELISAs.
- Dájer, A., Gutiérrez, E. J., Zapata, D., & Honhold, N. (1995). Comparación de cinco pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* y reporte preliminar del porcentaje de reactores positivos en hatos bovinos en Yucatán , 6(2), 84–90.
- Diaz, M. (2003). Manual de enfermedades infecciosas en el ganado bovino de la zona central del litoral ecuatoriano. *INEAP*.
- Duran, F. (2012). Manual del ganadero actual. *Latino*.
- Fernández, P., & Díaz, P. (2003). Pruebas diagnósticas, 1–6.
- Galvan, J. (2009). Red de Comunicación e Integración Biomédica Red CIB, 1–6.
- Jaramillo, C., & Martinez, J. (2010). Epidemiologia veterinaria.
- Koslag, J. (1988). Manual para educación agropecuaria, Bovino de Leche.
- Lottersberger, J., Pauli, R., & Vanasco, N. (2004). diagnostico de brucelosis bovina: desarrollo y validación de un elisa IgG, (1), 3–5.

- Maldonado, J., Kowalski, A., & Milla, M. (2010). *Zootecnia Tropical*.
- Mariño, O. (2000). Brucelosis : metodologías diagnósticas e interpretación de resultados, (1), 57–60.
- Mejia, K., & Lemus, C. (2012). Comparacion de las pruebas de Bengala y Rivanol con Elisa para el diagnostico de Brucelosis Bovina. *Red Vet, 13*, 14.
- Molina, C. (1985). El ganado lechero a travez de la historia.
- Montes, I. (2002). Diagnóstico de la brucelosis, 3.
- Nielzen, K. (1998). Brucelosis: Development and succes using Elisa for Diagnosis, 35–45.
- OIE. (2012). Brucelosis, 1–6.
- OMS. (2011). El tamizaje sigue siendo la mejor inversion para afrontar el cancer de cuello uterino. *Boletin, 89*, 621–700.
- Ortiz, M., & Acosta, M. (2012). Prueba de rosa de bengala y/o tarjeta en el diagnostico de brucelosis bovina.
- Paredes, S. (2012). Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia alluriquin, recinto cristal de lelia. Escuela politecnica del ejército.
- Paulin, L., Andrade, W., & Castro, V. (2009). Evaluación entre cuatro técnicas serológicas para el diagnóstico de infecciones causadas por brucella abortus en bovinos.
- Ramirez, C., Gomez, R., & Rodriguez, C. (2009). Aplicación de la prueba de fluorescencia polarizada para la detección de brucelosis. *Ciencia UANL, 3*, 295–304.

- Rivers, R., Andrews, E., Donoso, G., & Oñate, A. (2006). Brucella abortus : immunity , vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. *Archivos Medicos*, 38, 7–18.
- Rivers, R., Andrews, E., González, A., Donoso, A., & Oñatel, A. (2006). Brucella abortus: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Laboratorio de Inmunología Molecular*.
- Rojas, X., Muñoz, S., Otto, B., Nelsen, K., & Perez, B. (2004). Utilizacion de test de fluorescencia polarizada y Elisa de competencia en el diagnostico de Brucelosis en Camelidos.
- Sanchez, A., & Zamorano, M. (2011). Brucelosis Normas preventivas.
- Senasa. (2012). Prevención de enfermedades reproductivas en vacas lecheras. Retrieved from prensa@senasa.gob.ar
- Tarabla, H. D. (2008). Interpretacion de pruebas diagnosticas.
- Vega, C., Ariza, A., & Rodriguez, F. (2008). Brucelosis: Una infeccion Vigente. *UNAM*.
- Vera, R. (2013). “*Incidencia de brucelosis bovina (brucella abortus) en el canton pichincha, provincia de manabí*. universidad técnica estatal de quevedo unidad.

6.3 ANEXOS

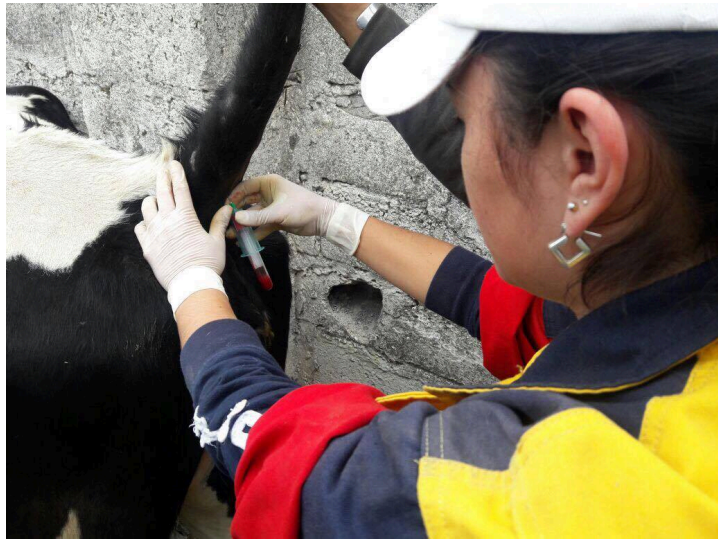
Anexo 1: Extraccion de Sangre.



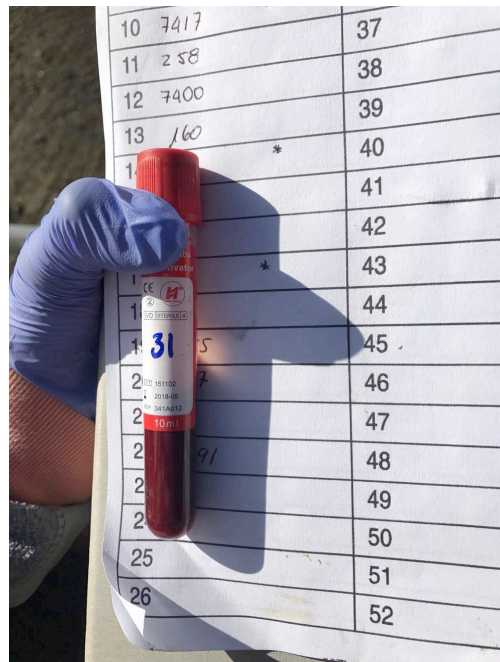
Anexo 2: Almacenamiento de Muestras, en hielera.



Anexo 3: Posicionamiento de la cola del bovino.



Anexo 4: Rotulación de Muestras tomadas.



Anexo 5: Instalaciones y Manga para el manejo.



Anexo 6: Posición del Veterinario para la toma de muestra



Anexo 7: Introducción de la Aguja a la vena coccígea.



Anexo 8: Encaje del tubo tapa roja al vacutainer.



Anexo 9: Resultados Rosa de Bengala 1

N° ID	NOMBRE	EDAD	SEXO	VACUNA	RESULTADO
1	BLANQUITA	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
2	55	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
3	215	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
4	189	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
5	100	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
6	236	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
7	220	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
8	157	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
9	218	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
10	206	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
11	95	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
12	217	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
13	234	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
14	222	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
15	230	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
16	229	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
17	242	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
18	205	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
19	221	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
20	228	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
21	210	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
22	102	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
23	261	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
24	97	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
25	224	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
26	191	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
27	103	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
28	157	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
29	CARETA	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
30	J1	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
31	118	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
32	196	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
33	GACHA	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
34	204	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
35	107	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
36	LUCERO	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
37	109	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
38	115	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
39	158	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
40	152	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
41	172	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
42	194	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
43	203	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
44	207	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
45	213	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
46	226	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
47	232	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
48	233	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	POSITIVO
49	244	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO
50	176	VARIAS	HEMBRA	NO HAY REGISTRO	NEGATIVO

Anexo 10: Resultados Rosa de Bengala 2

N° ID	NOMBRE	EDAD	SEXO	VACUNA	RESULTADO
1	254	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
2	57	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
3	136	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
4	48	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
5	262	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
6	83	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
7	164	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
8	7388	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
9	7373	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
10	185	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
11	31	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
12	77	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
13	40	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
14	67	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
15	73	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
16	159	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
17	7459	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
18	7405	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
19	250	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
20	103	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
21	PEQ	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
22	7418	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
23	74	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
24	252	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
25	45	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
26	41	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
27	76	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
28	49	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
29	20	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
30	145	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
31	180	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
32	137	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
33	7396	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
34	12	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
35	162	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
36	60	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
37	38	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
38	182	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
39	29	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
40	80	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
41	2	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
42	174	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
43	5	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
44	58	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
45	114	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
46	251	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
47	130	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
48	1	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
49	128	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
50	59	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO

51	188	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
52	255	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
53	63	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
54	84	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
55	GRANDE	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
56	122	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
57	27	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
58	7467	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
59	150	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
60	256	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
61	85	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
62	132	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
63	125	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
64	7427	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
65	148	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
66	179	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
67	7474	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
68	167	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
69	264	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
70	258	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
71	39	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
72	177	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
73	7417	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
74	133	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
75	149	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
76	7445	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
77	7408	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
78	124	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
79	140	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
80	168	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
81	195	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
82	52B	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
83	147	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
84	7401	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
85	52A	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
86	155	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
87	160	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
88	7391	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
89	7385	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
90	7	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
91	7400	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
92	88	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
93	37	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
94	260	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	NEGATIVO
95	119	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
96	68	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
97	70	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO

Anexo 11: Resultados ELISAc (verdaderos positivos y falsos positivos)

N° ID	NOMBRE	EDAD	SEXO	VACUNA	RESULTADO
1	233	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
2	204	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
3	261	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
4	207	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
5	103	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
6	152	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
7	196	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
8	109	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
9	205	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
10	203	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
11	158	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
12	194	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
13	213	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
14	LUCERO	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
15	102	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
16	262	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
17	83	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
18	7373	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
19	40	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
20	67	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
21	73	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
22	250	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
23	PEQ	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
24	41	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
25	76	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
26	49	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
27	145	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
28	162	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
29	174	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
30	114	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
31	1	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
32	128	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
33	255	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
34	GRANDE	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
35	122	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
36	150	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
37	125	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
38	7427	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
39	148	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
40	179	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
41	258	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
42	39	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
43	7417	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
44	133	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
45	7408	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
46	124	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
47	195	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
48	52B	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
49	147	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
50	52A	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
51	153	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
52	160	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
53	7385	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
54	119	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
55	68	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO
56	70	VARIAS	HEMBRA	CEPA-19	POSITIVO

Anexo 12: Resultados ELISAc (falsos negativos)

N° ID	NOMBRE	EDAD	SEXO	VACUNA	RESULTADO
1	252	VARIAS	HEMBRE	CEPA-19	NEGATIVO
2	48	VARIAS	HEMBRE	CEPA-19	NEGATIVO

CAPITULO VII

PROPUESTA

Incorporar el uso de la prueba Rosa de Bengala para el desarrollo de un plan de diagnóstico de brucelosis para todo el ganado de la zona de Salache, ya que en el establecimiento estudiado la prevalencia de la enfermedad es baja.

7.1 DATOS INFORMATIVOS

Las instituciones involucradas en la presente propuesta serían; la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Agrocalidad y la hacienda ubicada en Salache.

7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Existen instituciones que realizan el plan de diagnóstico de Brucelosis en el país, pero por aspectos económicos es complicado realizar una campaña que cubra todo el territorio nacional, además de que no resulta sustentable por el gobierno. Existe una diversidad de pruebas diagnósticas, unas con mejores valores de sensibilidad y especificidad que otras, pero se debe tomar en cuenta los costos de cada una de ellas. Con los datos obtenidos en esta investigación se puede incorporar la prueba Rosa de Bengala como una prueba diagnóstica para *Brucella*, ya que los costos fueron significativamente más bajos en comparación a ELISA competitiva, manteniendo sobre todo buenos valores de sensibilidad y especificidad.

7.3 JUSTIFICACIÓN

La incorporación de planes de diagnóstico en el país tiene como fin controlar y erradicar la presencia de *B. Abortus*, a la vez que contribuiría a terminar con problemas socioeconómicos y al mejoramiento de la producción, de igual manera disminuiría la zoonosis de esta enfermedad.

7.4 OBJETIVOS

- Diagnosticar animales positivos a *B. Abortus* en la zona para lograr erradicar la enfermedad.
- Tener valores reales de prevalencia de la enfermedad por zona en nuestro país.
- Controlar el ingreso de ganado por zonas y en las fronteras internacionales.

7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

La inversión de la información del plan de diagnóstico sería dependiente de la dimensión del hato. Se habla de inversión y no de gasto, ya que después de la erradicación de la enfermedad en la zona o hacienda, los gastos de medicamentos bajarían, mientras que la producción lechera aumentaría notablemente.

7.6 FUNDAMENTACIÓN

Brucelosis es una enfermedad altamente zoonótica que además ocasiona pérdidas económicas considerables, por ello una vez diagnosticadas como positivas las reses contaminadas, el desecho de estas cabezas de ganado aportaría a la erradicación de la enfermedad, permitiendo así al Ecuador aumentar las posibilidades de exportación de producción.

7.7 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO

Concientizar a todas las instituciones y propietarios encargados de esas cabezas de ganado para que sean partícipes en el plan de diagnóstico. El método sería la toma de muestras de sangre de los bovinos por personal calificado y posteriormente un análisis de laboratorio.

7.8 ADMINISTRACIÓN

La Universidad Técnica de Ambato mediante el personal de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en conjunto con la empresa pública, serían los responsables de la realización de esta propuesta para beneficio de toda la comunidad.

7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Los médicos veterinarios, instituciones y propietarios podrán mediante esta propuesta, mejorar su producción y minimizar los gastos y pérdidas económicas.