



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TEMA**

“COMPARACIÓN DE DOS PRUEBAS DIAGNOSTICAS BRUCELLA AB TEST  
KIT- ELISA COMPETITIVO DE ALTA SENSIBILIDAD PARA BRUCELOSIS  
BOVINA EN UN HATO LECHERO DEL CANTÓN CAYAMBE PROVINCIA DE  
PICHINCHA”.

“Documento final del proyecto de investigación como requisito para obtener el  
grado de Médico Veterinario Zootecnista”.

**AUTOR**

JUAN CARLOS JURADO MUÑOZ

**TUTOR**

Dr. MARCO ROSERO PEÑAHERRERA, Mg.

**Cevallos – Ecuador**

**2020**

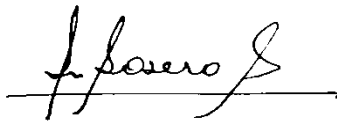
## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Marco Antonio Rosero Peñaherrera, Mg

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación “COMPARACIÓN DE DOS PRUEBAS DIAGNOSTICAS BRUCELLA AB TEST KIT- ELISA COMPETITIVO DE ALTA SENSIBILIDAD PARA BRUCELOSIS BOVINA EN UN HATO LECHERO DEL CANTÓN CAYAMBE PROVINCIA DE PICHINCHA”. Ha sido minuciosamente revisado. Por lo tanto, se autoriza la presentación de este trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

**Cevallos, 08 de Septiembre del 2020**



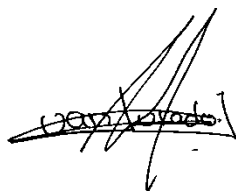
.....  
Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg

Tutor

## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo, Juan Carlos Jurado Muñoz, portador de la cédula N° 1600574444, libre y voluntariamente declaro que la tesis “COMPARACIÓN DE DOS PRUEBAS DIAGNOSTICAS BRUCELLA AB TEST KIT- ELISA COMPETITIVO DE ALTA SENSIBILIDAD PARA BRUCELOSIS BOVINA EN UN HATO LECHERO DEL CANTÓN CAYAMBE PROVINCIA DE PICHINCHA” es original, auténtica y personal.

En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

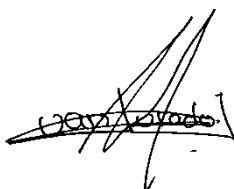


.....  
Juan Carlos Jurado Muñoz

## DERECHO DE AUTOR

Al presentar esta tesis como uno de los requisitos previos para la obtención del título de Tercer Nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.


Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de esta tesis 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 esta tesis, o parte de ella.



.....  
Juan Carlos Jurado Muñoz

"COMPARACIÓN DE DOS PRUEBAS DIAGNOSTICAS BRUCELLA AB TEST KIT-  
ELISA COMPETITIVO DE ALTA SENSIBILIDAD PARA BRUCELOSIS BOVINA  
EN UN HATO LECHERO DEL CANTÓN CAYAMBE PROVINCIA DE  
PICHINCHA".

REVISADOR POR:



Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

FECHA:



Ing. Marco Perez, PhD

06-01-2021

PRESIDENTE TRIBUNAL:



Dr. Gerardo E. Kelly A. Mg

06/01/2021

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:



Med. Edison Ponce, Mg

06/01/2021

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:

## **DEDICATORIA**

A Dios, por permitirme culminar con éxito mis estudios. A mis padres, porque gracias a su esfuerzo y apoyo he logrado cumplir mi sueño de ser Médico Veterinario y Zootecnista.

A todos mis amigos y familiares que de una u otra forma contribuyeron para que llegara a feliz término este proceso de estudios.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Técnica de Ambato, en especial a la facultad de Ciencias Agropecuarias por acogerme en sus aulas para prepararme en esta especialidad y aportar de manera positiva al progreso de la sociedad.

A mis docentes, porque sus enseñanzas han sido la base fundamental para fortalecer mis conocimientos que me servirán en el futuro para desempeñarme como Médico Veterinario y Zootecnista.

Un agradecimiento especial a mi tutor el Dr. Marco Antonio Rosero Peñaherrera por ser un excelente docente preocupado por el aprendizaje de los estudiantes y guiarme para la obtención de mi título.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	15
ABSTRACT.....	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
CAPITULO I.....	18
MARCO TEÓRICO.....	18
1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	18
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1. OBJETIVO GENERAL.....	21
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
CAPITULO II.....	22
METODOLOGÍA.....	22
2.1. MATERIALES.....	22
2.1. MÉTODOS.....	23
2.2.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	23
2.2.2. LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	24
2.2.3. FACTORES DE ESTUDIO.....	24
2.2.4. TRATAMIENTOS.....	24
2.2.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	26
2.3. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	26



2.3.1 PROCEDIMIENTO.....	26
2.3.2 BRUCELLA AB TEST KIT.....	31
2.3.3 ELISA.....	32
CAPITULO III.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1 RESULTADOS.....	36
3.1.1 PREVALENCIA.....	36
3.1.1.1. PREVALENCIA APARENTE.....	36
3.1.1.2. PREVALENCIA REAL.....	37
3.1.2. VALORES EPIDEMIOLOGICOS.....	38
3.1.2.1. SENSIBILIDAD.....	38
3.1.2.2. ESPECIFICIDAD.....	38
3.1.3 VALOR PREDICTIVO.....	39
3.1.3.1 VALOR PREDICTIVO POSITIVO.....	39
3.1.3.2. VALOR PREDICTIVO NEGATIVO.....	40
3.2 DISCUSIÓN.....	42
3.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS.....	43
CAPITULO IV.....	44
CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS.....	44
4.1. CONCLUSIONES.....	44

4.2. RECOMENDACIONES.....	44
4.3. BIBLIOGRAFÍA.....	46
4.4 ANEXOS.....	49

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. HOJA DE CONTROL DE BOVINOS.....	26
TABLA 2. RESULTADOS EN LAS PRUEBAS Y PREVALENCIA.....	37
TABLA 3. NUMERO DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS.....	41

## **RESUMEN EJECUTIVO**

Esta investigación tuvo como objetivo comparar las pruebas Brucella Ab Test Kit y ELISA Competitivo para diagnosticar la presencia de Brucelosis Bovina en la hacienda “El Pinar”, Cantón Cayambe, Provincia de Pichincha. Para la ejecución de la investigación se recolectó sangre de 80 bovinos Holstein Hembras Mestizas, con una edad aproximada de 3 - 4 años de las cuales el 10% de la muestra presentó abortos en los últimos 6 meses.

El procedimiento empezó luego del ordeño, mientras las vacas aún se encontraban en sus respectivos puestos, por medio de palpación se localizó la vena coccígea de la cual procedimos a tomar la muestra de sangre en tubos vacutainer de 5ml, para la realización de Brucella AB Test Kit se depositó 1 gota de sangre en el pocillo del kit y luego 2 gotas de diluyente, esperamos 10 minutos y podemos leer los resultados dando 12 muestras positivas de las 80 totales, mientras que para realizar Elisa Competitivo se separaron las 12 muestras que fueron positivas en la prueba anterior y los tubos fueron refrigerados y enviados al laboratorio.

Los resultados obtenidos confirmaron que los animales que fueron positivos Brucella Ab Test Kit también lo fueron para ELISA competitivo, al ser comparadas sus valores fueron: para prevalencia real de Brucella AB test Kit 3,7%, prevalencia aparente de Elisa Competitiva 15%, sensibilidad y especificidad (25%, 100%) respectivamente para ambos test, valor predictivo positivo 0.3 y valor predictivo negativo 0. Se concluye que Brucella AB Test Kit es un método diagnóstico rápido y confiable.

Palabras Clave: Brucella AB Test Kit, Elisa Competitivo, Prevalencia, Sensibilidad, Especificidad

## **ABSTRACT**

The objective of this research was to compare the Brucella Ab Test Kit and Competitive ELISA to diagnose the presence of Bovine Brucellosis in the “El Pinar” farm, Cayambe Canton, Pichincha Province. For the execution of the research, blood was collected from 80 Holstein Mestizo female cattle, with an approximate age of 3-4 years of which 10% of the sample had abortions in the last 6 months.

The procedure began after milking, while the cows were still in their selected positions, by means of palpation the coccygeal vein was located from which we proceeded to take the blood sample in 5ml vacutainer tubes, for the realization of Brucella AB Test Kit 1 drop of blood was placed in the well of the kit and then 2 drops of diluent, we waited 10 minutes and we can read the results giving 12 positive samples of the 80 total, while to perform Competitive Elisa, the 12 samples that were positive in the previous test and the tubes were refrigerated and sent to the laboratory.

The results obtained confirmed that the animals that were positive Brucella Ab Test Kit were also positive for competitive ELISA, when their values were compared were: for real prevalence of Brucella AB Test Kit 3.7%, apparent prevalence of Elisa Competitive 15%, sensitivity and specificity (25%, 100%) respectively for both tests, positive predictive value 0.3 and negative predictive value 0. It is concluded that Brucella AB Test Kit is a fast and reliable diagnostic method.

Key Words: Brucella AB Test Kit, Elisa Competitive, Prevalence, Sensitivity, Specificity

## **JUSTIFICACIÓN**

Hace muchos años el país ha invertido ingentes cantidades de recursos en un plan con relación a la erradicación de la Brucella, ya que es una enfermedad que a más de generar grandes pérdidas para los ganaderos, representa un serio peligro por ser una enfermedad zoonótica, este plan no ha tenido éxito ya que los propietarios de animales enfermos no reportan los casos positivos pues esto implica grandes pérdidas económicas. Una de las causas más importantes para que esta enfermedad eventualmente se salga de control es la complejidad que implica el proceso para recolección y envío de muestras a laboratorios, que regularmente se encuentran en las grandes ciudades, alejados de la zona rural, por esta razón mi intención al realizar esta investigación es utilizar un Kit de diagnóstico rápido, el mismo que se lo puede utilizar en el campo y simplifique de manera importante el diagnóstico de esta enfermedad, con la ayuda de Brucella AB Test Kit se podría mejorar el tiempo de respuesta ante el diagnóstico de la enfermedad, se generaría un importante ahorro en manejo y envío de muestras, lo que contribuiría de manera significativa en la solución de problemas de la Salud Pública, pérdidas económicas de los ganaderos y contribuiría además en su erradicación. Mi investigación busca además incorporar una alternativa diagnóstica que pueda ser utilizada por ganaderos y por instituciones públicas que manejan el área pecuaria como una herramienta para la detección temprana, teniendo en cuenta su bajo costo, su aplicación rápida en el campo y sobre todo la confiabilidad de sus resultados.

## **CAPÍTULO I**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **1.1. Antecedentes Investigativos**

La Brucelosis es una enfermedad que a nivel mundial produce severas pérdidas económicas en las explotaciones pecuarias. Se considera una importante zoonosis, que es transmitida por animales con su contacto directo o secreciones, también al consumir leche o subproductos lácteos. Los serotipos *Brucella melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*, que entre animales presentan transmisión vertical y horizontal, provocan aborto e infertilidad en sus hospedadores naturales, las cabras, las ovejas, las vacas y las cerdas. Además de afectar a sus hospedadores habituales, *Brucella sp.* afecta a animales salvajes y otras especies domésticas que pueden ser reservorios de la enfermedad para otras especies y para el ser humano **(Díaz Aparicio, 2017)**.

La investigación tuvo como objetivo diagnosticar la Brucelosis en la población bovina en el Camal Municipal de Ambato, Provincia de Tungurahua, mediante el método rápido Anigen Test Kit. Las características que tuvo en cuenta la autora son: fichas de cada bovino, datos de los introductores y el lugar de procedencia. Se usó Brucella AB Test Kit en 60 bovinos con un resultado de 60 negativos que significaron que Brucella no es una causa de morbilidad de las hembras que llegan al camal Ambato **(Benitez, 2011)**.

El ensayo realizado en el barrio Salache parroquia Eloy Alfaro del cantón Latacunga a una altitud de 3.849 msnm, con una muestra de 147 bovinos sometidos a Rosa de Bengala y ELISA Competitivo, arrojó los siguientes resultados: para sensibilidad y especificidad de Rosa de Bengala (88.89% y 69%) y ELISA (88.89% y 0%); y valor predictivo positivo, con coincidencias en las ambas pruebas a 0.29, valor predictivo negativo para RB de 0.98 y ELISA competitivo de 0 **(Soria, 2017)**.

Las pruebas serológicas son la base para el esquema de diagnóstico de la brucelosis, mismas que, por medio de pruebas de aglutinación actúan en la detección de anticuerpos. Las más aplicadas en sangre son:

- Prueba de tarjeta o Rosa de Bengala (RB), procedimiento rápido y cualitativo para detección de anticuerpos IgG e IgM contra cepas lisas de Brucella. prueba tamiz en bovinos, caprinos y porcinos.
- Prueba de precipitación con Rivanol (RIV), considerada como prueba complementaria cuantitativa para detección de anticuerpos IgM y macroglobulinas contra cepas lisas de Brucella en bovinos que resultaron positivos a la prueba de tarjeta, recomendada para efectos de campaña; considerada como prueba complementaria cuantitativa **(Mejía Martínez, K; Lemus Flores, 2012)**

El diagnóstico definitivo y confirmativo se basa en pruebas de laboratorio; considerando como el método más confiable el aislamiento e identificación del microorganismo mediante hemocultivo, este procedimiento es lento (hasta siete semanas), tedioso y poco exitoso, por su contagiosidad; de gran riesgo para la salud de los profesionales encargados del estudio. Por estas razones el examen bacteriológico no siempre es practicable **(Mejía Martínez, K; Lemus Flores, 2012)**. Respecto a las técnicas inmunoenzimáticas en relación con las convencionales se determinó a ELISA Indirecta como prueba tamiz de elevada sensibilidad respecto a la Rosa de Bengala **(Nielsen y col., 1998)**.

Respecto de las ventajas de la introducción de C-Elisa, están su sensibilidad, especificidad, objetividad en la lectura y su confiabilidad como las más importantes. El diagnóstico en sí se hace con bastante rapidez y precisión, al igual que los falsos positivos, ya que diferencian los anticuerpos de infección de aquellos generados por cepa 19, por otra parte, el hecho que los equipos puedan utilizarse para el diagnóstico de otras enfermedades ha incidido en la reducción de los costos de instalación, con el



consecuente incremento en el uso de la técnica y correspondiente capacitación del técnico que la aplicará **(Nielsen y col., 1998)**.

La sensibilidad y especificidad del Brucella Ab Test Kit son del 92% y 80% respectivamente frente a Brucella bovina; mientras que en otro estudio en la misma prueba de diagnóstico los valores son de 98% y 94% respectivamente para brucelosis canina. De la misma manera tenemos a (CROMATEST) manifestando que su rapid test tiene una sensibilidad analítica de 25 UL/ml y una especificidad del 100% **(Ariza, 2018)**.

Según un estudio realizado por Benitez, G. 2013 invita a conocer esta prueba a los ganaderos para que lo utilicen y así evitar la comercialización de bovinos contagiados mediante un diagnóstico rápido de la enfermedad. En comparación con otras pruebas serológicas como ELISA, Rosa de Bengala, Prueba de Fijación de Complementos y Prueba de Aglutinación en Tubo; estas pruebas no proporcionan un diagnóstico rápido y requieren equipos y laboratorios especializados para su aplicación. Se recomienda la prueba con Anigen Test Kit ya que proporciona pruebas rápidas, precisas y fáciles de realizar **(Benitez, 2011)**

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo General**

Comparar dos pruebas diagnósticas **Brucella Ab Test Kit- ELISA competitivo** de alta sensibilidad para brucelosis bovina en un hato lechero del Cantón Cayambe Provincia de Pichincha.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- 1.- Determinar el porcentaje de especificidad y sensibilidad de las pruebas Brucella AB Test Kit y Elisa competitiva.
- 2.- Diagnosticar la presencia de *Brucella abortus* mediante el uso de Brucella AB Test Kit y ELISA competitivo en la Hacienda Guachalá.
- 3.- Establecer valores de prevalencia real y aparente.

## **CAPITULO II**

### **METODOLOGÍA**

## 2.1. Materiales

### Materiales Biológicos

- Vacas
- Muestras de Sangre

### Materiales de Campo

- Kits (Brucella Ab Test Kit)
- Overol
- Botas
- Agujas Vacutainer #80
- Tubos Vacuette tapa roja (5ml) #80
- Gradilla
- Mascarillas
- Paños húmedos
- Nariguera
- Guantes de examinación

### Materiales de Oficina

- Esferos
- Registros
- Rotuladores
- Libreta

### Equipos de Laboratorio

- Centrifugadora

#### Equipos

- Cámara
- Computadora
- Impresora

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Ubicación del experimento

El experimento se realizará en la Parroquia Cangahua, Cantón Cayambe, Provincia de Pichincha”.

**Tabla 1:** Ubicación de Guachala

<b>Guachala</b>	
<b>Latitud:</b>	0°02'25"S 78°10'15"O
<b>Altitud:</b>	2830 m.s.n.m
<b>Zona Horaria:</b>	UT- 5:00

**Fuente:** GADCh. (2015).

### 2.2.2 Localización del área de estudio

La Hacienda “El Pinar” (véase en el anexo 1) se encuentra en el kilómetro 45 de la Panamericana vía a Cangahua en la Provincia de Pichincha, al sur oriente de Cayambe

hacia la Mitad del Mundo, en la parroquia Cangahua está a 3186 m.s.n.m las coordenadas de su ubicación geográfica se encuentran entre los 76 12 30" de longitud occidental y 00 02 30" latitud sur y un clima templado entre 8° y 22°C (GADCh, 2015)

### 2.2.3. Factores de estudio

- Prueba de laboratorio Brucella AB Test Kit
- Prueba de laboratorio Elisa Competitivo
- Bovinas Hembras

### 2.2.4 Tratamientos

El presente estudio consta de dos tratamientos el número de animales elegidos para la investigación se calculó mediante el siguiente cálculo muestral:

#### Cálculo de tamaño de muestra

$$n = \frac{N\sigma^2 z^2}{(N - 1)e^2 + \sigma^2 z^2}$$

#### Dónde:

n = el tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población.

$\sigma$  =Desviación estándar de la población que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor constante de 0,5.

Z = Valor obtenido mediante niveles de confianza. Es un valor constante que, si no se tiene su valor, se lo toma en relación con el 95% de confianza equivale a 1,96 (como más usual) o en relación con el 99% de confianza equivale 2,58, valor que queda a criterio del investigador.

e = Límite aceptable de error muestral que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor que varía entre el 1% (0,01) y 9% (0,09), valor que queda a criterio del encuestador.

$$n = \frac{240 * (0.5)^2(1.96)^2}{(240 - 1) * (0.09)^2 + (0.5)^2(1.96)^2}$$
$$n = \frac{230,496}{2.8963} = 79.58$$

#### Tratamiento 1 Brucella AB Test Kit

Por medio de palpación se localizó la vena coccígea entre el espacio de las vértebras (Co) 6-7, donde insertaremos la aguja para tomar la muestra de sangre en tubos vacutainer de 5ml. Para la realización de Brucella AB Test Kit se colocó en una superficie plana y se agregó 1 gota de sangre en el pocillo y luego 2 gotas de diluyente, esperamos 10 minutos y podemos leer los resultados teniendo en cuenta que en el dispositivo se pueden observar dos letras que son: línea de prueba T y la línea de control C la cual indicia que se está realizando correctamente, un resultado positivo será entonces el que pinte estas dos líneas.

#### Tratamiento 2 Elisa Competitiva

Se identificaron y separaron las muestras con resultados positivos a la prueba rápida con el fin de ser conservados en hielo hasta ser enviados al laboratorio para ser sometidos a Elisa Competitiva.

### **2.2.5. Diseño experimental**

No existe diseño experimental en la presente investigación se aplicó un análisis epidemiológico para determinar por medio de cálculos estadísticos los valores de especificidad y sensibilidad de cada una de las pruebas junto con el valor predictivo positivo y negativo.

## **2.3 Manejo del experimento**

### **2.3.1. Procedimiento**

La población total de la hacienda es de 240 bovinos en producción, siendo 80 las que participaran en el estudio con la siguientes características: raza Holstein Mestiza; condición corporal 3/5; edad aproximada entre 3 - 4 años de segundo y tercer parto, de las cuales el 10% de la muestra presento abortos en los últimos 6 meses.

**Tabla 1: Hoja de control de bovinos**

<b>ANIMALES</b>	<b>ARETE</b>	<b>EDAD/AÑOS</b>	<b>RAZA</b>	<b>ABORTOS</b>
1	608	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
2	642	4	HOLSTEIN	

			FRIESIAN	
3	589	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
4	522	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
5	241	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
6	479	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
7	627	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
8	596	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
9	285	4	NORMANDO	X
10	542	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
11	509	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
12	592	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
13	603	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
14	434	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
15	469	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
16	629	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
17	553	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
18	547	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
19	555	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
20	370	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
21	574	3	HOLSTEIN	



			FRIESIAN	
22	601	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
23	520	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
24	625	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
25	538	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
26	425	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
27	486	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
28	BABOSA	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
29	541	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
30	604	4	HOLSTEIN FRIESIAN	X
31	393	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
32	616	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
33	480	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
34	619	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
35	404	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
36	442	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
37	391	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
38	289	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
39	583	4	HOLSTEIN FRIESIAN	

40	558	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
41	481	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
42	436	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
43	390	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
44	429	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
45	554	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
46	482	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
47	235	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
48	278	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
49	264	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
50	280	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
51	214	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
52	203	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
53	207	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
54	209	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
55	255	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
56	251	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
57	189	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
58	154	3	HOLSTEIN	

			FRIESIAN	
59	165	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
60	158	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
61	144	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
62	123	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
63	100	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
64	177	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
65	499	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
66	487	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
67	411	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
68	206	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
69	203	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
70	159	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
71	142	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
72	146	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
73	148	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
74	180	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
75	189	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
76	198	3	HOLSTEIN FRIESIAN	

77	192	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
78	197	3	HOLSTEIN FRIESIAN	
79	196	4	HOLSTEIN FRIESIAN	
80	199	3	HOLSTEIN FRIESIAN	

**Fuente: (Autor, 2020)**

El procedimiento inicia luego del ordeño, mientras las vacas aún se encontraban en sus respectivos puestos, primero se procedió a colocar los guantes de examinación y se situó la cola en posición vertical sujetándola por el tercio medio, luego retiramos los residuos de materia fecal con paños húmedos y con la mano libre (véase en el anexo 2), por medio de palpación se localizó la vena coccígea entre el espacio de las vértebras (Co) 6-7, donde insertaremos la aguja para tomar la muestra de sangre en tubos vacutainer de 5ml. Para la realización de Brucella AB Test Kit se depositó 1 gota de sangre en el pocillo y luego 2 gotas de diluyente, esperamos 10 minutos y podemos leer los resultados dando 12 muestras positivas de las 80 totales (véase en el anexo 3; 3,1; 3,2; 3,3), mientras que para realizar Elisa Competitivo se separaron las 12 muestras que fueron positivas en la prueba anterior y los tubos fueron refrigerados y enviados al laboratorio (véase en el anexo 4; 4,1; 4,2).

Luego de obtener los resultados del laboratorio se procedió a comparar con los obtenidos por el Test y realizar los cálculos correspondientes.

### **2.3.2 Brucella AB Test Kit**

La inmunocromatografía se basa en observar en zonas específicas del papel de nitrocelulosa la adherencia de los anticuerpos captura, la muestra es añadida en la

zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra el antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa, caso contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse (**Llorente et al., 2018**).

En el dispositivo la línea se coloreará como rosa o azul si las muestras son positivas. En el caso de que se coloree solo una línea las muestras son negativas. La zona de control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se une al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas. (**Díaz Herrera et al., 2015**)

### **2.3.3 Método Elisa.**

La técnica se basa en la detección de una reacción antígeno-anticuerpo utilizando dos componentes: un anticuerpo (el cual se unirá al antígeno) y una enzima (que es la que se activará y señalará la unión) dando como resultado un producto que puede ser cuantificado mediante medidores enzimáticos. El proceso que se basa en el método denominado sándwich que consiste en agregar al suero problema anticuerpos captura dirigidos al antígeno inmovilizado, los cuales se unirán a una enzima (peroxidasa) que es capaz de modificar el sustrato en presencia de un cromógeno provocando un cambio del color que es detectado por un espectrofotómetro. (**Bravo & Cruz, 2015**).

En el procedimiento los sueros problema son expuestos al lipopolisacárido liso (S-LPS) de la *Brucella abortus*, que se encuentra recubriendo las microplacas de ELISA, esta exposición debe ocurrir de manera simultánea con un anticuerpo monoclonal denominado competidor, el cual es altamente específico por la cadena O del LPS presente en una conformación distinta en la pared de las bacterias patógenas. Un suero proveniente de un animal infectado tendrá anticuerpos que compiten con el monoclonal por el antígeno presente en la microplaca, inhibiendo la unión del competidor al antígeno. En un animal negativo no existirá competencia y el antígeno competidor no estará inhibido para unirse a la cadena O del LPS (**Vircell, 2018**).

Después de un periodo de incubación y varios ciclos de lavado, se adiciona un anticuerpo anti-igG1 conjugado con peroxidasa de rábano picante, el cual reconocerá al anticuerpo competidor unido al s-LPS. Los materiales que no se unen durante las reacciones son removidos por medio de ciclos de lavado antes de la adición de la solución sustrato. La particularidad del color es por la conversión del sustrato por el conjugado en donde la densidad óptica es 450nm. En ausencia de anticuerpos debido a la infección por *Brucella* en el suero problema, el anticuerpo monoclonal se unirá a la cadena O del s-LPS. Esta reacción se evidencia por el desarrollo del color al final del procedimiento. Si el suero problema contiene anticuerpos específicos a *Brucella*, ellos compiten, por unirse a la cadena O de s-LPS con el anticuerpo monoclonal e inhiben la unión de éste al polisacárido O del s-LPS, por lo tanto, no desarrolla color. Los anticuerpos séricos de animales vacunados con Cepa 19 no compiten con el anticuerpo monoclonal debido a las diferencias en el reconocimiento vacunal, lo que conduce a una reacción negativa (presencia de color). En casos de muestras tomadas antes de 6 meses post- vacunación o en caso de vacunación no reglamentaria con Cepa 19 la prueba puede resultar falsamente positiva (**D'Pool et al., 2019**).

La técnica ELISA se fundamenta en la premisa de que luego de acoplar antígenos solubles o anticuerpos a una matriz sólida insoluble, éstos retienen la actividad

inmunológica y en que estas biomoléculas también pueden unirse a una enzima, reteniendo el conjugado resultante, tanto la actividad enzimática como inmunológica.

Existen varios tipos:

- ✓ ELISA DIRECTO. Las placas ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones en las que se sospecha se encuentra el antígeno. Se incuban con anticuerpos marcados. Es necesario incluir controles negativos que serán muestras del mismo tipo que las analizadas (sangre, orina...), pero en las que se tenga la certeza de la ausencia del antígeno buscado. Asimismo, se incluyen controles positivos (soluciones donde se encuentra el antígeno buscado).
  
- ✓ ELISA INDIRECTO. Las placas ELISA se preparan de la misma forma a la anterior. Los controles positivos y negativos son los mismos. El sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario. La detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario.
  
- ✓ ELISA COMPETITIVA. Este tipo de ELISA es el más complejo. Se utiliza para detectar o cuantificar antígenos presentes en bajas cantidades. Se denomina así ya que se utiliza un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra por la unión al anticuerpo.
  
- ✓ ELISA SÁNDWICH (Ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos). Se trata de un ensayo muy empleado en el que se recubre el

pocillo con un primer anticuerpo anti-antígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpos, se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo.

- ✓ ELISA SPOT. Es un método altamente sensible en la inmunología para enumerar las células que producen una citoquina dada. Las células se estimularon en una placa de microtitulación pre-recubierta con un anticuerpo específico anti-analito (**Román & Luna, 2017**)

### **CAPITULO III**



## **Resultados y Discusión**

### **3.1 Resultados**

#### **3.1.1 Prevalencia Real y Aparente**

Clínicamente, es una medida epidemiológica a manera de estimador de la probabilidad que un individuo esté enfermo, que se utiliza para cuantificar la presencia de una característica en una población en un tiempo, es decir, de una manera estática y sin importar si son casos nuevos o viejos (Salguero, 2014).

En el desarrollo de los estudios epidemiológicos se utilizan con frecuencia las pruebas diagnósticas para conocer esta prevalencia, sin embargo, dicha prevalencia puede ser aparente o real, estos mismos valores pueden ser obtenidos de la tabla de contingencia (Salguero, 2014).

##### **3.1.1.1 Prevalencia Aparente**

Proporción de individuos que son positivos a la prueba diagnóstica que se utilizó (tamiz o filtro), para medir el evento de interés.

Prevalencia Aparente = (Verdaderos Positivos + Falsos Positivos) / Población \*100

##### **3.1.1.2 Prevalencia Real**

Proporción de individuos verdaderamente enfermos clasificados con una prueba de oro.

Prevalencia Real= (Verdaderos Positivos+ Falsos Negativos) / Población \*100 (Agurto & Fernandez, 2018)

**Tabla 2. Resultados en las pruebas y Prevalencia Real y Aparente**

Animales	Prueba		Enfermos	No enfermos ASINTO	PR (%)	PA (%)
80	Brucella ABTest Kit	Positivo	3	9	3,7%	
		Negativo	0	68		
	Elisa competitivo	Positivo	3	9		
		Negativo	0	0		
*PR= Prevalencia Real. PA=Prevalencia Aparente						

**Fuente: (Autor, 2020)**

La proporción de individuos que son positivos a la prueba de Brucella AB Test Kit es de Prevalencia Real (3,7%) mientras que la proporción de individuos verdaderamente enfermos clasificados con la prueba ELISA, corresponde a Prevalencia Aparente (15%). Cualquiera de los dos datos de prevalencias indicados, son susceptibles de modificación ya que éstos varían por la sensibilidad y la especificidad de las pruebas por la cantidad de falsos negativos.

### 3.1.2 Valores Epidemiológicos

### **3.1.2.1 Sensibilidad**

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la capacidad del test para detectar la enfermedad (Bravo & Cruz, 2015).

La sensibilidad se puede interpretar como la proporción de pacientes enfermos que obtuvieron un resultado positivo en la prueba diagnóstica. Es decir:

$$\text{Sensibilidad} = \text{Verdaderos Positivos} / \text{Verdaderos Positivos} + \text{Falsos Negativos}$$

### **3.1.2.2 Especificidad**

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la capacidad del test para detectar a los individuos sanos (Bravo & Cruz, 2015).

La especificidad se estimaría como:

$$\text{Especificidad} = \text{Verdaderos Negativos} / \text{Verdaderos Negativos} + \text{Falsos Positivos}$$

Se entiende entonces que la especificidad es la proporción de individuos correctamente diagnosticados con ausencia de la condición o enfermedad por la prueba diagnóstica en estudio; es la proporción de verdaderos negativos que fueron correctamente identificados por el test, del total de individuos sanos según el estándar de referencia.

De lo anterior podemos inferir que la especificidad es el cociente entre los verdaderos negativos dividido por la suma de verdaderos negativos y falsos positivos.

Valores altos de sensibilidad y especificidad en el rango de la inmunocromatografía están definiendo la confianza en los resultados de este tipo de pruebas rápidas que ha revolucionado el mercado aplicadas a la detección de varias patologías. (Bravo & Cruz, 2015)

### **3.1.3 Valores predictivos positivos y negativos**

La sensibilidad y la especificidad son medidas importantes de la exactitud diagnóstica de una prueba, pero no pueden ser usadas para estimar la probabilidad de enfermedad en un paciente individual, los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) proporcionan estimaciones de la probabilidad de la enfermedad, entonces es la probabilidad de que la prueba diagnóstica entregue el resultado correcto positivo o negativo. (Fernández & Díaz, 2019)

#### **3.1.3.1 Valor predictivo positivo:**

Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en la prueba. El valor predictivo positivo puede estimarse, por tanto, a partir de la proporción

de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos:(Fernández & Díaz, 2019)

$$\text{Valor Predictivo Positivo} = \frac{\text{Verdadero Positivo}}{\text{Verdadero Positivo} + \text{Falso Positivo}}$$

Valor predictivo positivo: Corresponde a la probabilidad condicional de que el paciente tenga la enfermedad, dado que el test resultó positivo, expresado de otra manera, es la proporción de pacientes con la prueba diagnóstica positiva que efectivamente tienen la condición.(Agurto & Fernandez, 2018)

### 3.1.3.2 Valor predictivo negativo:

Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano, se estima dividiendo el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba:(Fernández & Díaz, 2019)

$$\text{Valor Predictivo Negativo} = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Falsos Negativos} + \text{Verdaderos Negativos}}$$

**Tabla 2. Número de casos positivos y negativos y valores epidemiológicos**

Prueba		Enfermos	No enfermos	VP+	VP-	Se	Es
--------	--	----------	-------------	-----	-----	----	----

Brucella AB Test Kit	Positivo	3	9	0.3	0	25	100
	Negativo	0	68				
Elisa competitivo	Positivo	3	9	0.3	0	25	0
	Negativo	0	0				
*VP+= Valor Predictivo Positivo. VP-= Valor Predictivo Negativo. Se=Sensibilidad. Es= Especificidad.							

**Fuente: (Autor, 2020)**

Al utilizar el método Elisa Competitivo como confirmación de los casos positivos en el Brucella AB Test Kit indican que el nuevo método tiene una Especificidad (100%) esto quiere decir que de 100 animales sanos 100 van a ser clasificados como verdaderos negativos; por otro lado la Sensibilidad (25%) nos indica que de cada 100 animales verdaderamente positivos 25 van a ser clasificados como verdaderos positivos; teniendo en cuenta que para ser una prueba rápida que se aplique en campo se obtienen excelentes resultados.

La probabilidad de que un individuo con resultado positivo a la prueba esté realmente enfermo es la misma para las dos pruebas Valor Predictivo Positivo (0.3) mientras que la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo a la prueba esté verdaderamente sano tiene los mismos resultados siendo Valor Predictivo Negativo (0).

En conclusión hablamos que Brucella AB Test Kit posee resultados similares con Elisa Competitivo y nos brinda una herramienta rápida y efectiva de diagnóstico.

### 3.2 DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta a (ARIZA ,2016) que en su estudio habla sobre las ventajas de la introducción de C-Elisa están su sensibilidad, especificidad y objetividad en la lectura, frente a los resultados de Brucella AB Test Kit como prueba alternativa sólida con valores de sensibilidad 92% y especificidad 80% frente a Brucella bovina, de la misma manera tenemos a (CROMATEST) manifestando que su rapid test tiene una sensibilidad analítica de 25 UL/ml y una especificidad del 100%. Comparado con los resultados obtenidos en la presente investigación son: Sensibilidad de 25% y Especificidad del 100% para Brucella AB test Kit, mientras que para Elisa Competitivo una Sensibilidad del 25% y Especificidad del 100%. Lo que da a notar que la precisión con relación a la especificidad se encuentra entre 80 al 100% para los animales negativos, mientras que la sensibilidad entre 92 a 25%. Se observa diferencia entre los resultados de sensibilidad y especificidad en ambos estudios, debido a que en el estudio in vitro de Ariza se reprodujo colonias de Cepa 19 en tubos de agar inclinados favoreciendo al crecimiento bacteriano, se usaron 1070 muestra de suero bovino (350 positivas y 720 negativas), mientras que en esta investigación in vivo se usaron 80 bovinos llegando a la conclusión que Elisa competitivo es altamente sensible a *Brucella abortus* cuando sabemos que existe prevalencia de la enfermedad mientras que al no saber se necesita una prueba más específica como lo es Brucella AB Test Kit.

El ensayo realizado en Salache, 147 bovinos que fueron sometidos a Rosa de Bengala y ELISA c, arrojaron los siguientes resultados: para sensibilidad y especificidad, de 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 (Soria, 2017). Comparado con los resultados obtenidos en la presente investigación son: valor predictivo positivo 0.3 y valor predictivo negativo 0, Sensibilidad del 25% y Especificidad del 100% para Brucella AB test Kit, mientras que para Elisa Competitivo una Sensibilidad de 25% y Especificidad del 100%. Soria al usar Rosa de Bengala y Elisa en su estudio tiene resultados altos que confirman la razón por la cual son los métodos diagnósticos más usados exaltando el uso de Rosa de Bengala, sin embargo no

se tiene en cuenta que es una prueba de aglutinación rápida y que en fases agudas o en algunos animales en fase crónica no suele ser eficaz. Es aquí donde esta investigación brinda una alternativa diagnóstica con resultados similares reales y confiables.

De acuerdo con una investigación realizada por Benitez (2013) en el Camal Municipal de Ambato, en la cual se estudió la incidencia de brucelosis bovina mediante el método rápido Anigen Test Kit. Se usó Brucella AB Test Kit en 60 bovinos con un resultado de 60 negativos que (Benítez, 2013). Comparado con los resultados obtenidos en la presente investigación son: Sensibilidad de 25% y Especificidad del 100% para Brucella AB test Kit, se fortalece el uso de este Kit ya que no posee ninguna restricción con animales en fase aguda, crónica o asintomática midiendo IgG e IgM que puedan dar una idea equivocada de la diseminación de la enfermedad.

### **3.2 Verificación de la hipótesis**

Ha: Las pruebas Brucella AB Test Kit y ELISA competitivo son una alternativa diagnóstica de alta especificidad para detectar tempranamente la presencia de Brucelosis en vacas.

Ho: Las pruebas Brucella AB Test Kit y ELISA competitivo no son una alternativa diagnóstica de alta especificidad para detectar tempranamente la presencia de Brucelosis bovina

## **CAPITULO IV**



## **CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS**

### **4.1 CONCLUSIONES**

1. Se compararon los valores de sensibilidad y especificidad dando como resultado para Brucella AB Test Kit (25% y 100%) y para Elisa competitivo (25% y 0%); siendo valores similares demostrando de esta manera que para ser una prueba rápida que se aplique directamente en campo da excelentes resultados.
2. Se confirmó la presencia de la enfermedad en el hato LECHERO de la hacienda Guachala por medio de Brucella AB Test Kit y Elisa Competitivo.
3. Se establecieron los valores de Prevalencia Real para Brucella AB Test Kit de 3,7% que indica la proporción de individuos que son positivos y Prevalencia Aparente para Elisa Competitivo de 15% que representa la proporción de individuos enfermos.

### **4.2 RECOMENDACIONES**

1. Como futuro Médico Veterinario preocupado por la situación actual del país y conociendo el problema y las necesidades de los ganaderos, con mi investigación pretendo dar a conocer un nuevo método diagnóstico alternativo y efectivo como es Brucella AB Test Kit el cual tiene varias ventajas, entre otras:
  - a. Genera valores similares con relación a Elisa Competitivo (recordando que ha sido el método más usado por su veracidad).
  - b. Es sencillo de usar al poder realizarlo el propio ganadero y no necesitar personal capacitado o laboratorios.

- c. Tiene bajo costo con relación a otras pruebas.
  - d. Es fácilmente replicable y reproducible por los ganaderos del país.
2. Se debería buscar fortalecer lazos entre AGROCALIDAD y las Asociaciones de Ganaderos de la Sierra, El Oriente, el Litoral, aunando esfuerzos para capacitar sobre la erradicación de la enfermedad pues representa grandes pérdidas económicas por el hecho de tener que sacrificar a los animales positivos cuya carne no debería ser comercializada, sin embargo suelen ser vendidos en camales en los cuales solo se decomisa las ubres y el útero pero el resto de la canal se distribuye de manera normal, el problema se complica más cuando estos animales son sacrificados en camales clandestinos o ferias en donde se habla ya de un foco de infección, que trae como consecuencia la diseminación y contagio no solo a animales sino también a los humanos.
3. Se deberían generar estrategias en las que el órgano regulador pueda tener un acercamiento con los ganaderos para dejar atrás el miedo y promover de manera responsable el reporte de animales enfermos y poder con el tiempo tener sus hatos libres de Brucella, entre muchas otras alternativas se les podría ofrecer recompensas a manera de estímulos y subsidios a los hatos ganaderos libres de la enfermedad, una iniciativa que pase por la rebaja de aranceles en las exportaciones, rebaja de costos de vacunas, insumos para la alimentación del ganado, de tal manera que el productor experimente el beneficio de mantener su ganado sano y no sea una opción sino un compromiso.

### **4.3 BIBLIOGRAFÍA**

Agrocalidad; MAGAP. (2008). Registro Oficial, (376). Retrieved from

<http://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/12/Reglamento-de-Seguridad-y-Salud-para-la-Construcción-y-Obras-Públicas.pdf>

Aguayo, M. D. Z., Ruano, M. P., & Villafuerte, X. R. (2016). Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 27(3), 607–617.

<https://doi.org/10.15381/rivep.v27i3.11995>

Agurto, D., & Fernandez, P. (2018). Prevalencia de Brucelosis bovina en la Parroquia Ingapirca, Cantón Cañar, Provincia de Cañar. *El Escorial*, 34,56.

Ariza, J. (2018). Brucelosis: aspectos actuales de principal interés, 1–7.

Ávila García, J., & Cruz Hernández, G. E. (2017). Enfermedades Abortivas, 1–8.

Retrieved from [http://www.ammveb.net/clinica/enfermedades\\_abortivas.pdf](http://www.ammveb.net/clinica/enfermedades_abortivas.pdf)

Bang, E. (2018). Brucelosis bovina : Brucella abortus Brucella abortus. *The Center for Food Security and Public Health*, 1–6.

Benitez, M. (2011). Diagnóstico de brucelosis (brucella) bovina (bóvidos) mediante anigen rapid b. Brucella ab. Test kit en vacas lecheras del Camal Municipal del Cantón Ambato de la Provincia del Tungurahua. *Repo.Uta.Edu.Ec*, 130. Retrieved from

<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/5301/Mg.DCEv.Ed.1859.pdf?sequence=3>

Bravo, S., & Cruz, J. (2015). Estudios de exactitud diagnóstica : Herramientas para su Interpretación, 21(1), 158–164.

Casas Olascoaga, R. (2018). Brucelosis bovina. *Veterinaria*, 43(170), 11–23.

D’Pool, G., Pirela, S. R., Torres, T., Pérez, M., García, A., Castejón, O., & Rojas, N.



(2019). Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 14(2), 168–












176.

- Díaz Aparicio, E. (2017). Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *OIE Revue Scientifique et Technique*, 32(1), 43–60. <https://doi.org/10.20506/rst.32.1.2188>
- Díaz Herrera, D., Cruz Santana, Y., Cruz Sui, O., Martín Alfonso, D., Alfonso González, M., Ortiz Losada, E., ... Silva Cabrera, E. (2015). Desarrollo y evaluación del desempeño de una prueba rápida inmunocromatográfica para el diagnóstico de la brucelosis. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 105–111.
- Felipe, R., & Azze, O. (2018). *Técnicas Inmunoenzimáticas Para Ensayos Clínicos De Vacunas Y Estudios Inmunoepidemiológicos*. Retrieved from [http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/investigaciones/Tecnicas\\_inmunoenzimaticas\\_para\\_ensayos\\_clinicos\\_de\\_vacunas\\_y\\_estudios\\_inmunoepidemiologicos.pdf](http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/investigaciones/Tecnicas_inmunoenzimaticas_para_ensayos_clinicos_de_vacunas_y_estudios_inmunoepidemiologicos.pdf)
- Fernández, P., & Díaz, P. (2019). Pruebas diagnósticas, 1–6.
- GADCh. (2015). Parroquia de Cangahua. Retrieved from <http://gadprchontapunta.gob.ec/napo/>
- Jaramillo, V. (2017). Determinación De Seroprevalencia De Brucelosis Bovina En La Provincia De Pastaza Y Posibles Factores De Riesgo Asociados Con La Enfermedad. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3127/1/T-UCE-0014-54.pdf>
- Llorente, M. T., Clavel, A., Varea, M., Olivera, S., Gonzáles, V., Castillo, F., & Rubio, M. (2018). Evaluación de un test de inmunocromatografía (crypto-strip) para la detección de *cryptosporidium parvum* en muestras fecales. *VII Congreso Ibérico de Parasitología*, 2001. Retrieved from [http://www.corisbio.com/pdf/Science/DUO-Crypto-Giardia/Evaluacion\\_CryptoStrip.PDF](http://www.corisbio.com/pdf/Science/DUO-Crypto-Giardia/Evaluacion_CryptoStrip.PDF)
- Mariño, O. (2018). Brucelosis : metodologías diagnósticas e interpretación de resultados, (1), 57–60.

- Mejía Martínez, K; Lemus Flores, C. (2012). Comparación de las pruebas rosa de bengala y rivanol con elisa para el diagnóstico de brucelosis bovina - Comparing the rosa de bengala and rivanol in the elisa test for diagnosis of bovine brucellosis. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(2), 1–14.
- Oña L. (2018). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. *Tesis*, 1–100. Retrieved from <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Rivers, R., Andrews, E., Donoso, G., & Oñate, A. (2016). Brucella abortus : immunity , vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. *Archivos Medicos*, 38, 7–18.
- Román, F., & Luna, J. (2017). Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (Brucella abortus, Brucella mellitensis, Brucella suis, Brucella canis) en el Ecuador y el mundo. *Centro de Biotecnología*, 6, 82–93. Retrieved from <http://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/342/309>
- Salguero, A. (2014). *Universidad Central del Ecuador Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia brucelosis en bovinos de las Provincias de Carchi , Esmeraldas e Imbabura y análisis de factores de riesgo .*
- Soria, A. (2017). Evaluación de pruebas diagnósticas para brucella abortus en bovinos lecheros. *UTA*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1037/0022-3514.51.6.1173>
- Vircell. (2018). Brucella ELISA IgM producto para diagnóstico In vitro, 1–3.



#### **4.4 ANEXOS**


		IMAGEN
1	La Hacienda “ El Pinar”	
2	Toma de muestras	

3	Modo de empleo de Brucella AB Test Kit	<div style="text-align: center;">  <h3>Instruction for Brucella Ab test</h3> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Sample fill line (black line): 1 drop ( 10 µl )</p> </div> <hr/> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <h2>1</h2> <p>Sampling &amp; loading</p> </div> <div style="width: 65%;">  <p>1 drop of sample •• Do not overload the sample !!</p> </div> </div> <hr/> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <h2>2</h2> <p>Absorption</p> </div> <div style="width: 65%;">  <p>Wait for complete absorption</p> </div> </div> <hr/> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <h2>3</h2> <p>Buffer addition</p> </div> <div style="width: 65%;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="text-align: center; margin-right: 10px;"> <p>00:00:00</p>  </div> <div> <p>2 drops of buffer •• after complete absorption</p>  </div> </div> </div> </div> <hr/> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <h2>4</h2> <p>Reading</p> </div> <div style="width: 65%;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="text-align: center; margin-right: 10px;"> <p>00:05:00-00:10:00</p>  </div> <div> <p>+</p>  <p>Read the result between 5 ~ 10 min</p> <p>-</p>  </div> </div> </div> </div> <hr/> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <h2>5</h2> <p>Discard</p> </div> <div style="width: 65%;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="text-align: center; margin-right: 10px;"> <p>00:10:00</p>  </div> <div> <p>Discard the used device In valid result after 10 min</p>  </div> </div> </div> </div>
---	--	--

<p>3.1</p>	<p>Kit Brucella AB Test Kit</p>	
<p>3.2</p>	<p>Brucella AB Test Kit positivo</p>	



3.3	Brucella AB Test Kit Negativo	
4	Muestras con resultados positivos separadas para ser enviadas al laboratorio.	

4.1	Resultados de Elisa Competitivo	 <p style="text-align: center;"><b>INFORME DE RESULTADOS</b></p> <table border="1" data-bbox="734 573 1338 989"> <tr> <td>Fecha de recepción:</td> <td colspan="3">Miércoles, 18 de Diciembre del 2019</td> </tr> <tr> <td>Fecha de realización:</td> <td colspan="3">Jueves 19 y viernes 20 de Diciembre del 2019</td> </tr> <tr> <td>Fecha de entrega:</td> <td colspan="3">Lunes 23 de Diciembre del 2019</td> </tr> <tr> <td>PROPIETARIO:</td> <td>Ing. Gonzalo Vorbek</td> <td>TELÉFONO:</td> <td>0999738328</td> </tr> <tr> <td>RUC:</td> <td></td> <td>UBICACIÓN:</td> <td>Cayambe- Guachalá</td> </tr> <tr> <td>HACIENDA:</td> <td>Guachalá</td> <td>MAIL:</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SOLICITANTE:</td> <td>Juan Jurado</td> <td>RESPONSABLE:</td> <td>Micrb. Gabriela Paredes</td> </tr> <tr> <td>ESPECIE:</td> <td>Bovina</td> <td>RAZA:</td> <td>Varias Razas</td> </tr> <tr> <td>EDAD:</td> <td>Varias Edades</td> <td>SEXO:</td> <td>Hembras</td> </tr> <tr> <td>N° DE MUESTRAS:</td> <td>95</td> <td>TIPO DE MUESTRA:</td> <td>Suero</td> </tr> <tr> <td>PRUEBAS SOLICITADAS:</td> <td colspan="3">Brucella/POEAB-24</td> </tr> <tr> <td>METODO:</td> <td colspan="3">ELISA competitivo</td> </tr> <tr> <td>OBSERVACION:</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table>	Fecha de recepción:	Miércoles, 18 de Diciembre del 2019			Fecha de realización:	Jueves 19 y viernes 20 de Diciembre del 2019			Fecha de entrega:	Lunes 23 de Diciembre del 2019			PROPIETARIO:	Ing. Gonzalo Vorbek	TELÉFONO:	0999738328	RUC:		UBICACIÓN:	Cayambe- Guachalá	HACIENDA:	Guachalá	MAIL:		SOLICITANTE:	Juan Jurado	RESPONSABLE:	Micrb. Gabriela Paredes	ESPECIE:	Bovina	RAZA:	Varias Razas	EDAD:	Varias Edades	SEXO:	Hembras	N° DE MUESTRAS:	95	TIPO DE MUESTRA:	Suero	PRUEBAS SOLICITADAS:	Brucella/POEAB-24			METODO:	ELISA competitivo			OBSERVACION:			
Fecha de recepción:	Miércoles, 18 de Diciembre del 2019																																																					
Fecha de realización:	Jueves 19 y viernes 20 de Diciembre del 2019																																																					
Fecha de entrega:	Lunes 23 de Diciembre del 2019																																																					
PROPIETARIO:	Ing. Gonzalo Vorbek	TELÉFONO:	0999738328																																																			
RUC:		UBICACIÓN:	Cayambe- Guachalá																																																			
HACIENDA:	Guachalá	MAIL:																																																				
SOLICITANTE:	Juan Jurado	RESPONSABLE:	Micrb. Gabriela Paredes																																																			
ESPECIE:	Bovina	RAZA:	Varias Razas																																																			
EDAD:	Varias Edades	SEXO:	Hembras																																																			
N° DE MUESTRAS:	95	TIPO DE MUESTRA:	Suero																																																			
PRUEBAS SOLICITADAS:	Brucella/POEAB-24																																																					
METODO:	ELISA competitivo																																																					
OBSERVACION:																																																						
4.2	Resultado de Elisa Competitivo	<table border="1" data-bbox="717 1056 1317 1304"> <thead> <tr> <th>NUMERO</th> <th>NOMBRE</th> <th>ARETE</th> <th>RESULTADO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>BABOSA</td><td></td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>2</td><td>S/N</td><td>285</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>3</td><td>S/N</td><td>542</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>4</td><td>S/N</td><td>370</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>5</td><td>S/N</td><td>538</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>6</td><td>S/N</td><td>442</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>7</td><td>S/N</td><td>583</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>8</td><td>S/N</td><td>538</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>9</td><td>S/N</td><td>608</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>10</td><td>S/N</td><td>589</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>11</td><td>S/N</td><td>522</td><td>POSITIVO</td></tr> <tr><td>12</td><td>S/N</td><td>241</td><td>POSITIVO</td></tr> </tbody> </table> <p><b>RECOMENDACIONES:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Descartar animales positivos a la enfermedad lo más pronto posible.</li> <li>✓ Limpieza y desinfección de pezoneras.</li> <li>✓ Uso de utensilios médicos (guantes, catéteres, agujas) de manera individual.</li> <li>✓ Análisis de agua de regadío y de bebida.</li> <li>✓ Control de vectores (caninos).</li> <li>✓ Control total de la enfermedad en el hato sin excepción, por la presencia de animales reactivos positivos, lo que da a entender la presencia de la enfermedad en el predio.</li> </ul> <p>Micrb. Cristina Montalvo Directora LIVEXLAB</p> <p style="text-align: right;">Micrb. Gabriela Paredes Coordinadora de Bacteriología</p>	NUMERO	NOMBRE	ARETE	RESULTADO	1	BABOSA		POSITIVO	2	S/N	285	POSITIVO	3	S/N	542	POSITIVO	4	S/N	370	POSITIVO	5	S/N	538	POSITIVO	6	S/N	442	POSITIVO	7	S/N	583	POSITIVO	8	S/N	538	POSITIVO	9	S/N	608	POSITIVO	10	S/N	589	POSITIVO	11	S/N	522	POSITIVO	12	S/N	241	POSITIVO
NUMERO	NOMBRE	ARETE	RESULTADO																																																			
1	BABOSA		POSITIVO																																																			
2	S/N	285	POSITIVO																																																			
3	S/N	542	POSITIVO																																																			
4	S/N	370	POSITIVO																																																			
5	S/N	538	POSITIVO																																																			
6	S/N	442	POSITIVO																																																			
7	S/N	583	POSITIVO																																																			
8	S/N	538	POSITIVO																																																			
9	S/N	608	POSITIVO																																																			
10	S/N	589	POSITIVO																																																			
11	S/N	522	POSITIVO																																																			
12	S/N	241	POSITIVO																																																			