

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MARÍA JOSÉ BENÍTEZ GONZÁLEZ



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

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

CEVALLOS – ECUADOR

2013

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo María José Benítez González, portadora de la cedula N° 180285662-3, libre y voluntariamente declaro que la tesis “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”, es original, auténtica y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

María José Benítez González

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.

María José Benítez González

“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”

APROBADO POR:

Dr. MVZ. Dipl. Roberto Almeida

Tutor

Ing. Agr. Mg. Luciano Valle

Asesor Biometrista

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO:

Fecha:

Ing. Agr.Mg.Giovanny Velastegui E.

Presidente del Tribunal

Dr. Armando Cruz

Miembro del Tribunal

Dr. Gerardo Kelly

Miembro del Tribunal

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis:

A mi madre Clara por ser ejemplo de arduo trabajo y tenaz lucha en la vida. Por su amor incondicional y por ser un pilar fundamental a lo largo de mi vida.

A mi padre Ernesto por su apoyo, sus consejos y amor en todo momento.

A mi esposo Mauricio que ha sabido apoyarme como amigo y pareja, para continuar y nunca renunciar.

A mi hermosa hija Sofía que es mi impulso diario para todo lo que hago en esta vida.

A mi hermano Ruperto y mi hermana Belén por ser parte de mi vida y un apoyo constante.

Los amo infinitamente...

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios porque siempre me ha bendecido, por permitirme culminar con éxito este proyecto y mi carrera y por “no dejarme morir en el intento”.

A mi amigo, prácticamente mi hermano Marco Chico por su ayuda y amistad incondicional.

A mis tutores por su ayuda, conocimientos, consejos y paciencia prestada para realizar mi proyecto de tesis.

Y a todas las personas que de una u otra manera me ayudaron durante toda mi carrera.

RESUMEN EJECUTIVO

RESUMEN

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. Para la ejecución del trabajo se tomaron 60 muestras de sangre de bovinos hembra en los corrales del Camal Municipal de Ambato. Las muestras de sangre se tomaron de la vena caudal en tubos vacutainer con EDTA con un promedio de 2cc por animal, ya que para realizar el test solo se necesita 20ul (2 gotas); de las 60 muestras, 60 dieron negativas, ninguna fue positiva. De estos resultados se concluye que la BRUCELOSIS bovina no tiene incidencia significativa que repercuta en la morbilidad de las hembras bovinas en el Camal Municipal de Ambato.

SUMMARY

The research aimed to diagnose Brucellosis in cattle population in the Municipal Slaughterhouse Ambato, Tungurahua Province, by using Rapid Test Kit for Anigen job execution took 60 blood samples from female cattle in pens near the slaughterhouse Municipal Ambato. Blood samples were taken from the caudal vein in EDTA vacutainer tubes with an average of 2cc per animal, as for the test only needs 20ul (2 drops) of the 60 samples, 60 were negative, none showed positive. From these results it is concluded that bovine Brucellosis has no significant impact on morbidity repercussions of female cattle in the Municipal Slaughterhouse Ambato.

ÍNDICE

	Pág.
CAPÍTULO 1	
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. ANALISIS CRITICO DEL PROBLEMA.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.4. OBJETIVOS.....	5
CAPÍTULO 2	
MARCO TEÓRICO E HIPOTESIS	
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	6
2.2. MARCO CONCEPTUAL.....	7
2.3. HIPOTESIS.....	27
2.4. VARIABLES DE LA HIPOTESIS.....	27

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	28
3.2. UBICACIÓN DEL ENSAYO.....	28
3.3. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR.....	28
3.4. FACTORES DE ESTUDIO.....	29
3.5. DATOS TOMADOS.....	29
3.6. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN.....	29
3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	30

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. LUGAR DE ORIGEN.....	34
4.2. RAZA.....	35
4.3. RESULTADO DEL ANIGEN TEST KIT.....	36
4.4. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	36

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES.....	37
5.2. RECOMENDACIONES.....	37

CAPÍTULO 6

PROPUESTA

6.1. TÍTULO.....	38
6.2. FUNDAMENTACIÓN.....	38
6.3. OBJETIVOS.....	38
6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	39
6.5. IMPLEMENTACIÓN/ PLAN DE ACCIÓN.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	42
APENDICE.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1.....	2
CUADRO 2.....	34
CUADRO 3.....	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1.....	14
GRÁFICO 2.....	17
GRÁFICO 3.....	19
GRÁFICO 4.....	20
GRÁFICO 5.....	35
GRÁFICO 6.....	36

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA 1.....	9
FOTOGRAFÍA 2.....	10
FOTOGRAFÍA 3.....	11
FOTOGRAFÍA 4.....	12
FOTOGRAFÍA 5.....	13
FOTOGRAFÍA 6.....	22
FOTOGRAFÍA 7.....	23
FOTOGRAFÍA 8.....	23
FOTOGRAFÍA 9.....	25
FOTOGRAFÍA 10.....	26
FOTOGRAFÍA 11.....	30
FOTOGRAFÍA 12.....	31
FOTOGRAFÍA 13.....	32
FOTOGRAFÍA 14.....	32
FOTOGRAFÍA 15.....	33

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 Formulación del problema

La falta de un diagnóstico rápido de Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvidos*) en la inspección antemortem en vacas lecheras en el Camal Municipal de Ambato de la provincia de Tungurahua constituye un riesgo para los trabajadores del camal y para los consumidores finales.

1.1.2. Contextualización del problema

El ganado bovino (*Bóvidos*) ha desempeñado un papel fundamental en la vida del ser humano, se sabe que desde los tiempos más remotos, los primitivos, mediante la cacería aprovechaban su carne, las pieles y los huesos de estos animales. En el continente americano los bovinos existen desde la llegada de los españoles. En 1492, en el segundo viaje de Cristóbal Colón, llegó el primer embarque de vacunos para proveer de alimentos a los colonizadores (Acosta C., 2002).

La inquietud del ser humano al observar los beneficios que podía obtener de los bovinos lo ha llevado a realizar diferentes cruces para mejorar los resultados en la producción y conformación de los animales, para así dar lugar a diferentes razas tanto de leche como de carne, y además cruces entre ellas para aprovechar cualidades específicas de cada una de ellas (Acosta C., 2002).

El agente causal de la brucelosis es la bacteria *Brucella* spp. Se trata de un cocobacilo, aeróbico, Gram negativo. Infecta en forma primaria a los animales. Se conocen 7 especies: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis* y *Brucella maris*. Los reservorios naturales principales para las distintas especies son: vacunos (*B. abortus*), caprinos (*B. melitensis*), porcinos (*B. suis*), ovinos (*B. ovis*), caninos (*B. canis*), roedores (*B. neotomae*) y, además, la recientemente hallada en

mamíferos marinos (*B. maris*). De las especies de *Brucella* caracterizadas hasta el presente, cinco son patógenas para el hombre. *Brucella melitensis* es la más virulenta, en tanto que *B. abortus* y *B. canis* producen infecciones leves. *B. suis* exhibe una virulencia intermedia. Recientemente se han identificado dos casos de infección humana por *B. maris* (Redacción El Santafesino, 2005)

La Brucelosis (*Brucella*) es una enfermedad que afecta gravemente a los vacunos (Bóvidos), la *B. Abortus* tiene afinidad por el útero grávido, glándulas mamarias, testículos, glándulas sexuales accesorias, vainas tendinosas, bolsas sinoviales, ganglios linfáticos de animales sexualmente adultos, se multiplica en los ganglios y de ahí por la linfa o la sangre y se ubica en los órganos de su predilección. En terneros también se multiplica en los ganglios linfáticos, la infección es temporal y transitoria. En la vaca adulta no gestante, la *Brucella* se ubica en el útero y en la glándula mamaria, si es gestante va al útero por fases bacterémicas que se inician en las ubres (Blood DC., 1992).

Brucella es una bacteria que posee una gran capacidad para sobrevivir y persistir en el ambiente bajo condiciones apropiadas, si se compara con muchas otras bacterias patógenas no esporulantes. A bajas temperaturas y humedades, *Brucella* puede sobrevivir en ambientes diversos por largos períodos (ver Cuadro 1).

CUADRO 1: Supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente.

Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 – 4 días
Fluidos y secreciones	10 – 30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37o C y pH 7,5	menos de 1 día
Agua a 8o C y pH 6,5	más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 – 8 meses

Fuente: Castro *et al* (2005).

En contraposición, son bastante sensibles al calor, así una suspensión diluida de *Brucella spp.*, se destruye rápidamente al ser sometida a la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60° C por 30 minutos. Sin embargo, una suspensión densa es más difícil de inactivar y se debe de prolongar el tiempo de exposición al calor o someterla a temperaturas más elevadas. *Brucella* es muy sensible a la radiación ionizante y mueren con rapidez al exponerla a la luz ultravioleta (López A., 2007).

En los bovinos (*Bóvidos*), la placenta produce una sustancia denominada eritritol que es un carbohidrato que suele estar en altas concentraciones en la placenta, membranas fetales, y feto mientras más avanzada sea la gestación. Esta sustancia propicia la masiva multiplicación de la brucela y fijación de esta a los tejidos. La invasión del útero grávido se inicia por las paredes de este pero pronto es ocupada su luz dando lugar a una endometritis ulcerosa grave de los espacios situados entre los cotiledones. El alantocorion, los líquidos fetales y los cotiledones sufren una invasión de brucellas y más tarde viene la destrucción de las vellosidades y con ello el aborto. Generalmente el aborto suele producirse en el último trimestre de gestación por ello se dice que el periodo de incubación es inversamente proporcional al estado de gestación (Guerrero A., 1996).

La brucelosis, también conocida como fiebre de Malta, es una enfermedad infecciosa que se presenta con episodios recurrentes de fiebre, debilidad, sudoración y dolores vagos. Es provocada por una bacteria llamada *Brucella*, que está en la sangre, las secreciones y la leche de vacas, cerdos, ovejas y cabras. Las personas pueden infectarse al ingerir leche de vaca, de oveja o de cabra o sus derivados (manteca, quesos) que contengan microorganismos viables, es decir productos que hayan sido fabricados con leche sin pasteurizar. También se adquiere por contacto directo con animales infectados o sus productos (manejo de sangre, orina, descargas vaginales, fetos abortados y placentas de animales infectados), razón por lo que se considera que es una enfermedad profesional de veterinarios, carniceros, granjeros y ganaderos (El Santafesino, 2005).

1.2. ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA

La enfermedad, llamada Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvidos*), es una infección causada por una bacteria, es grave, sumamente contagiosa y afecta principalmente al tracto genital de hembras y machos, así como también a diversos órganos y sistemas del animal como es el caso del conducto galactóforo que sería una de las fuentes más importantes de contaminación de tipo zoonótica, por consecuencia se puede presentar en varias etapas de la vida del animal, así como también puede estar presente en otras especies de mamíferos (Delgado y Centorbi, 1990).

Esta enfermedad tiene una grave repercusión económica no solo por la pérdida de crías sino también por la interrupción de la lactancia regular, repeticiones de celo, alargamiento del periodo post parto y por la infertilidad, esta enfermedad arroja pérdidas de 600 millones de dólares anualmente. Es una enfermedad de distribución mundial, son pocos los países que han logrado erradicarla. Su distribución es irregular y las tasas de incidencia son muy variables (Cotrina, N.; Fernández, A. 1991).

La Brucelosis (*Brucella*) se trasmite por vía oral a través de los alimentos y agua de bebida contaminada, pero constituyen vías de menor importancia, las mucosas y la piel intacta, otra vía de infección constituye el conducto galactóforo. Otras vías como la mecánica vaca-vaca así como la monta directa han perdido importancia no así la inseminación artificial debido a que la brucela se conserva bien en el semen congelado y además es este depositado en el tercio posterior del cerviz o en el útero eludiendo así la barrera natural y la acción bactericida de la vacuna. Todos los animales que no han sido vacunados tienen el riesgo de ser afectados, sin embargo, en los animales jóvenes se aumenta el riesgo de adquirir la enfermedad entre los 4 y 8 meses de edad (Escobar, E 1990).

1.3. JUSTIFICACIÓN

La investigación se llevó a cabo ya que la Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvido*) es una infección sumamente contagiosa y representa un alto riesgo para los operarios y médicos veterinarios de Camal Municipal del cantón Ambato.

Tiene una proyección no solo de salud pública sino también económica ya que con el diagnóstico específico de esta enfermedad se busca no solo erradicar o controlar la enfermedad sino también realizarlo con un método de diagnóstico rápido y eficaz que permita la menor pérdida económica para el ganadero.

Esta problemática ha despertado el interés de varios médicos veterinarios y de los propietarios de ganado para enfrentar y plantear posibles soluciones.

Va a impactar directamente a la población de ganaderos porque se beneficiarían de esta alternativa de diagnóstico ya que es un método rápido y sin margen de error.

Esta investigación goza de originalidad, pues es la primera vez que se ha trabajado con el método diagnóstico anigen test kit para Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvido*) en el Camal Municipal del Cantón Ambato Provincia de Tungurahua.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

Realizar un diagnóstico rápido de la Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvidos*) en vacas lecheras destinadas al sacrificio, en el Camal Frigorífico Municipal del cantón Ambato de la Provincia de Tungurahua.

1.4.2. Objetivo Específico

Aplicar Anigen Rapid B. *Brucella* Ab. Test Kit como método específico y rápido para el diagnóstico de la Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvidos*), en vacas lecheras destinadas al sacrificio en el Camal Frigorífico Municipal de Ambato.

Determinar la incidencia de la Brucelosis en vacas lecheras destinadas a sacrificio en el Camal Frigorífico Municipal del Cantón Ambato, mediante el método Anigen Rapid B. *Brucella* Ab. Test Kit para aplicar las normas sanitarias correspondientes según resultados.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO E HIPÓTESIS

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La brucelosis bovina es una infección causada por una bacteria, la *Brucella abortus*, que puede ser responsable de abortos en vacas. La infección natural o experimental con cepas de *Brucella abortus* virulentas va seguida de la formación de anticuerpos tipo IgM e IgG, pero el título de anticuerpos tipo IgM declina rápidamente, mientras que el título de IgG tiende a permanecer alto mientras el animal esté infectado. En animales con infección crónica la IgG es la inmunoglobulina principal y muchas veces es el único anticuerpo detectable. En nuestro país los rodeos de vacas lecheras son sometidos a estudios periódicos para determinar su estado sanitario utilizando técnicas serológicas. Para evitar la interferencia de anticuerpos vacúnales 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 los 18 meses de edad. Respecto de las técnicas de aglutinación utilizadas en el país (SAT, SAT-2ME) se observó una diferencia en los resultados obtenidos con estas técnicas interpretadas en conjunto o considerando solo SAT-2ME y los resultados de ELISA. Estos resultados mostraron que las PC arrojaron falsos resultados positivos y negativos, lo que hacen que si comparáramos la sensibilidad y especificidad de ELISA respecto de las PC, obtendríamos resultados erróneos. Estos resultados fueron confirmados por FC, y fueron coincidentes con los de ELISA (Lottersberger J., 2004).

En América se ha comprobado la infección de *Brucella abortus* solo por el biotipo 1 y en los Estados Unidos por los biotipos 1 y 3. El biotipo 2 desempeña un papel importante en Europa. En los países de América Latina la enfermedad adquiere una forma enzoótica y se considera la zona de más alta prevalencia en el mundo (Akakpo, A. J. 1991).

El reactivo ELISA desarrollado y evaluado en este trabajo podría ser utilizado para el diagnóstico serológico de brucelosis en rodeos lecheros, en reemplazo de las pruebas complementarias (SAT y SAT-2ME) utilizadas de rutina en los laboratorios veterinarios. La

muy buena correlación entre este ELISA y FC, sumado a la rapidez, sencillez y objetividad de la técnica hacen que sea una herramienta muy útil para aplicar en los planes de control de Brucelosis, aumentando la confiabilidad del diagnóstico con una disminución en el tiempo y costos de operación (Lottersberger J., 2004).

Anigen rápida Brucella Ab B. Test Kit es una cromatografía de inmunoensayo para la detección cualitativa de anticuerpos contra *Brucella abortus* en sangre, plasma, suero y leche. La brucelosis bovina es comúnmente causada por *Brucella abortus* y con menos frecuencia por *B. melitensis*, y rara vez por *B. suis*. La infección es generalizada a nivel mundial. Los seres humanos pueden ser infectados por contacto con animales o productos animales contaminados con estas bacterias. Pruebas serológicas disponibles incluyen la Rosa de Bengala, ELISA, prueba de fijación del complemento y prueba de aglutinación del tubo. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen un diagnóstico rápido y cada uno requiere de laboratorios especializados y equipos. El nuevo Anigen inmunocromatográfica rápida ensayo fue desarrollado para proporcionar información exacta, rápida y fácil (Bionote, Inc, 2012).

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. Bovinos (Bóvidos)

2.2.1.1. Historia

Como es conocido por todos, los aborígenes de la sierra ecuatoriana no conocían los bovinos antes de la llegada de los colonizadores españoles, los únicos animales domésticos usados para la producción de carne eran la llama y el cuy, en consecuencia era absolutamente desconocido el uso de la leche proveniente de animales como alimento humano. Los bovinos españoles de esa época eran conocidos con la denominación genérica de “iberos” y al ser traídos a las colonias españolas de América, dieron origen a nuestro ganado criollo. Como consecuencia del medio ambiente español, caracterizado por suelos relativamente pobres, acentuada escases de lluvia y por tanto de pasto, el bovino ibero era pequeño, de escasa capacidad abdominal, con poco desarrollo torácico, con buen desarrollo de sus patas y cubierto por una capa de los más diversos colores. Podríamos decir entonces, que así eran las características del ganado criollo existente en la Sierra. Algunos animales traídos, como resultado de mejores cuidados y sobre todo de abundante alimentación en ciertos valles

serranos, fueron capaces de producir un apreciable incremento de la producción, pero su real mejoramiento se obtuvo con el cruzamiento de animales de razas de origen europeo, especialmente de la raza Holstein y en menor escala con la raza Brown swiss (Molina C., 1985).

2.2.1.2. Generalidades

Los bovinos son animales vertebrados, mamíferos, ungulados. Pertenecientes a la familia de los Bóvidos y al género Bos. Existen las especies Bos taurus y Bos indicus. A la especie Bos taurus pertenecen los bovinos sin joroba como el tipo Europeo. El Bos indicus es el bovino con joroba, como el cebú (Koeslag Johan H., 1988).

2.2.1.3. Características

La cabeza está bien delineada y proporcionada al cuerpo. El hocico es grande, con ollares anchos y abiertos. Las mandíbulas son fuertes. Sus ojos son grandes y brillantes. La testuz es ancha y plana. El puente de la nariz es recto. Las orejas son de tamaño mediano. El cuello es largo y delgado, e insertado en forma suave en las paletillas. El tronco es proporcional al tamaño del animal, largo y profundo. Las costillas están colocadas altas y bien separadas. Deben tener la tendencia a aumentar la anchura y profundidad del tronco hacia la parte posterior. La espalda y la grupa son rectas, largas, anchas y sin irregularidades. Las patas y pezuñas poseen huesos finos, pero fuertes. Las pezuñas constan de una placa gruesa y dura. Son de naturaleza cornea. Protegen la última falange de las patas. Las canas son cortas y compactas, con talones altos y plantas planas. Las patas delanteras son de longitud media, descienden verticalmente y están bien separadas y plantadas en el piso. Las patas traseras son casi verticales, desde el corvejón a la caña. La piel rodea el cuerpo del animal, lo cubre y lo protege. El ganado europeo tiene su piel cubierta de pelo tipo lana, que le sirve para conservar el calor del cuerpo. Por el contrario, el cebú tiene su piel cubierta de pelo ralo y corto. El cebú se desarrolla bien en climas tropicales. Los cuernos crecen sobre el hueso frontal del cráneo. Están cubiertos por una capa cornificada. Su función es de defensa y ataque (Koeslag Johan H., 1988).

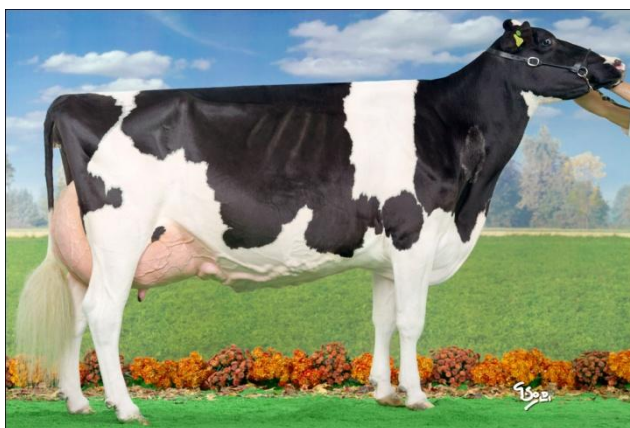
2.2.1.4. Razas y tipos

Las razas de bovinos más importantes para la producción de leche son la holstein, la suiza y la jersey. En las zonas tropicales se usan con frecuencia las cruzadas de estas razas con el cebú. Los cebús puros no son muy adecuados para la producción de leche.

2.2.1.4.1. Holstein

El ganado holstein-friesian tiene su origen en Holanda. En los países europeos se le encuentra como un animal de doble propósito. En los EUA se desarrollo un tipo con más alta producción de leche, que luego fue distribuido en América latina. El color característico de la raza es blanco manchado de negro. En ocasiones, se observan ejemplares con manchas rojas. La proporción de los dos colores es variable, aunque siempre debe ser blanco el abdomen, la borla de la cola y parte de las extremidades. El peso promedio de las hembras adultas es de 600 a 650kg. Los machos siempre tienen pesos superiores, llegando a sobrepasar los 1200kg. Este tipo de ganado es uno de los más grandes y sus características son bastantes definidas. Las hembras presentan la forma típica triangular, que caracteriza a las razas lecheras. En general, los animales de esta raza son dóciles y fáciles de manejar. Las vacas Holstein son las mejores productoras de leche, pero el contenido de grasa butírica de la leche no es muy alto. Por su alta producción, los animales puros de raza holstein no soportan bien los climas tropicales. Por la razón, se realiza la cruce de esta raza con el ganado cebú. El resultado es una animal más resistente con una mayor producción lechera (Koeslag Johan H., 1988).

FOTOGRAFÍA 1. Raza Holstein Friesian



Fuente World Holstein Friesian Federation (2010).

2.2.1.4.2. Brown Swiss

En su país de origen, Suiza, esta raza proporcionaba leche, carne y trabajo, es decir tenía un triple propósito. En la actualidad, existen dos tipos, el europeo y el americano. El primero es más rústico por vivir en zonas montañosas. El segundo fue especializado para la producción lechera en los E.U.A. Las vacas suizas adultas pesan de 600 a 800kg; los toros adultos de 800 a 1200 kg. El color del pelaje del ganado suizo va del pardo oscuro al claro. Los animales tienden a cambiar de color según la edad y la estación del año. Al nacer, los becerros son de color café o gris claro, casi blanco y se oscurecen a medida que crecen. Los animales adultos son más oscuros durante el invierno. Por lo general, los machos son de color más oscuro que las hembras. Una característica especial en la raza es que tienen pelaje de color gris claro alrededor del hocico, los párpados, los ijares y la línea media del dorso. Las mucosas y pezuñas son negras. El ganado suizo es rústico y adecuado para el pastoreo. Soporta bien climas adversos, tiene una vida útil bastante larga y muestra relativamente pocos problemas de fertilidad. Las vacas y toros tienen un temperamento tranquilo (Koeslag Johan H., 1988).

FOTOGRAFÍA 2. Raza Brown Swiss

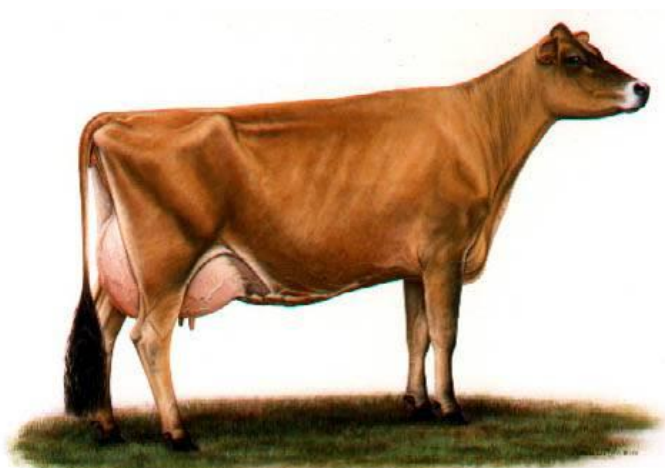


Fuente Jerland (2003).

2.2.1.4.3. Jersey

El ganado Jersey es de la isla del mismo nombre, situada en el Canal de la Mancha entre Inglaterra y Francia. Esta raza es la más pequeña de las razas lecheras europeas. Sin embargo, son animales de una gran capacidad de producción de leche y especialmente de grasa butírica. El contenido promedio de grasa es del 5% y se pueden encontrar animales que producen lechero con u 6% de grasa. Por esta característica, la raza Jersey se usa con frecuencia para producir leche destinada a la elaboración de productos lácteos tales como queso, crema y mantequilla. Las vacas Jersey tienen características típicas de las productoras lecheras. No son muy aptas para la producción de carne. La cabeza del ganado Jersey se caracteriza por la prominencia de los ojos y la curvatura hacia adentro de los cuernos. La coloración de este ganado varía desde café sumamente claro, hasta caoba oscuro. El color más común es el café con oscurecimiento en el cuello, cabeza y ancas. Ocasionalmente se encuentra ejemplares con manchas blancas bien definidas. El tamaño de los animales al nacer es pequeño. Pesan en promedio de 20 a 25kg. La raza precoz y se recomienda que las vaquillas sean cargadas a los 280kg de peso, o al llegar a 13 meses de edad. Los animales adultos no alcanzan pesos altos, en promedio las vacas pesan de 400 a 500 kg y los toros de 550 a 700 kg. Los sementales pueden ser peligrosos y difíciles de manejar. Entre las razas de origen europeo, la Jersey posee la mayor capacidad para soportar el clima tropical húmedo. La cruce entre cebú y el Jersey no es común, porque los híbridos no son buenos productores de leche (Koeslag Johan H., 1988).

FOTOGRAFÍA 3. Raza Jersey



The Jersey

Fuente Desarrollo y Defensa (2008).

2.2.1.4.4. Raza Criolla

Como todas las razas criollas adaptadas, es rústico, longevo, resistente al parasitismo interno y externo y en general soporta todas las inadecuadas prácticas de manejo impuesta por los llaneros (Salamanca A., 1995)

Se puede describir como tipo más o menos longilíneo, concavilíneo, porte mediano, cuerpo algo angosto, poco profundo, talla mediana (1.20-1.40mt), en adulto. Es ágil, vivaz e instintivo (Pinzón M., 1993).

En relación al color existe gran variedad en estas razas. Los colores más comunes son el lebruno (bayo claro), el hosco, araguato (colorados, amarillo quemado), encerado (negro-blanco), negros, oruga (pintado de negro y blanco), turpial pintado (colorado y blanco), barcinos, barroso (amarillo rayado) (Duran F., 2001).

En su mayoría tiene cuernos, los cuales son delgados, nacidos lateralmente y dirigidos hacia arriba. El cuello generalmente es corto y rígido, su piel es elástica. Sus miembros son bien aplomados, terminados en pezuñas firmes, resistentes y oscuras. Poseen ojos medianos y su mirada muy atenta. La ubre es pequeña con pezones bien plantados. La borla no sobrepasa el corvejón (Duran F., 2001).

FOTOGRAFÍA 4. Raza Criolla



Fuente Infolactea (2010).

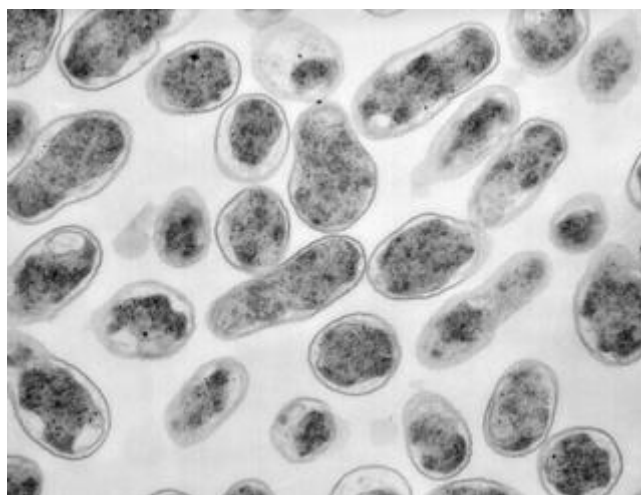
2.2.2. Brucelosis Bovina

2.2.2.1. Etiología

La *Brucella abortus* es una bacteria gran negativa, facultativa, intracelular, que afecta la especie bovina. Varias especies de *brucella* pueden afectar infectar al hombre en su labor profesional e incluso a través de la leche, convirtiéndose en una enfermedad zoonótica llamada fiebre ondulante. La importancia de la enfermedad en el hombre justifica ampliamente cualquier programa de erradicación. La brucelosis es una zoonosis por excelencia ya que se transmite en forma natural en los animales vertebrados al hombre. La enfermedad se propaga en los hatos de bovinos, reduciendo la fertilidad del rebaño, puede provocar abortos o muerte prematura de terneros débiles. Es una de las enfermedades de mayor importancia dentro de la patología veterinaria tanto desde el punto de vista económico como desde la salud pública (Duran F. 2012).

La brucelosis se encuentra ampliamente difundida en América del Sur; los perjuicios ocasionados por las fallas reproductoras, traducidas por la reducción en la producción lechera y de carne, son agravados por la devaluación comercial de los animales y de los hatos afectados, aliada a la perspectiva de imposición de barreras sanitarias en el ámbito del comercio nacional e internacional (Duran F.2012).

FOTOGRAFÍA 5. Brucella Abortus.



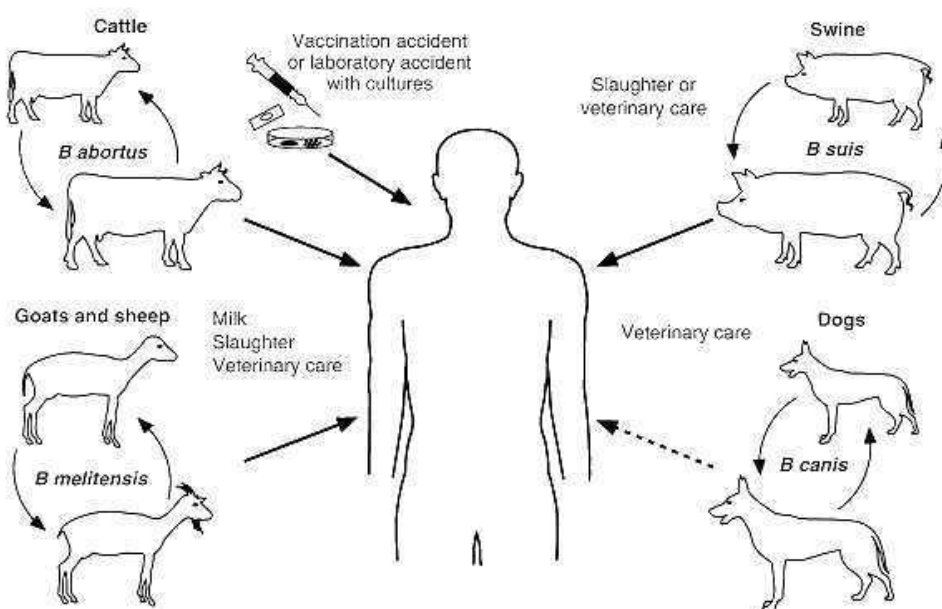
Fuente Experiencias Agroganaderas (2014).

2.2.2.2. Fuentes y vías de infección

2.2.2.2.1. Fuentes

Las personas que están expuestas más a la enfermedad son los veterinarios que hacen chequeos ginecológicos, inseminadores, vacunadores, vaqueros, familias de los trabajadores de campo y personas en general que pueden tener contacto directo con los animales o ingerir leche o agua contaminada. Si el agente causal de la infección es la cepa *Brucella abortus* generalmente la brucelosis en el hombre tiene un curso crónico que puede durar años. El hombre se infecta por *Brucella* por contacto directo o ingestión de productos de origen animal, la leche y productos lácteos, las verduras crudas y agua contaminada con excreta de animales infectados, siendo una enfermedad ocupacional de vaqueros, matarifes, carniceros y médicos veterinarios, la infección se puede contraer por la manipulación de fetos, envolturas fetales o al entrar en contacto con secreciones vaginales, excrementos y canales de animales infectados. El periodo de incubación generalmente dura de una a tres semanas, pero puede prolongarse a meses. Es una enfermedad septicémica, fiebre continua, intermitente o irregular (Díaz M., 2003).

GRÁFICO 1. Fuentes y Vías de Infección



Fuente Vetnext (2013).

2.2.2.2.2. Vía digestiva

Se trata de una vía de gran importancia epidemiológica. Los alimentos contaminados por secreciones fetales y restos de placentas o abortos o del parto normal de animales infectados constituyen vehículos de infección. La contaminación ambiental determinada por los restos de la placenta en el caso de abortos es muy intensa, pudiendo el agente permanecer viable por varias semanas en los pastos, siempre y cuando, se encuentre protegido de la luz solar. También puede ocurrir la contaminación de aguas y es allí donde la *Brucella* tiene una considerable sobrevivencia. La bacteria también es eliminada por la leche y el calostro que constituyen importantes fuentes de infección para los becerros que no se contaminaron por la vía trasplacentaria y también para los seres humanos. La pasteurización de la leche y del calostro elimina de forma eficiente las *brucellas*. La pasteurización del calostro no interfiere sensiblemente en la inmunidad pasiva de los becerros (Duran F. 2012).

2.2.2.2.3. Vía transplacentaria

Junto a la vía digestiva son las más importantes vías de transmisión de la brucelosis. La infección uterina generalmente ocurre en el tercio final de la gestación, determinando lesiones en la placenta y en el feto, las cuales pueden ocasionar la muerte fetal seguida del aborto, nacidos muertos o el nacimiento de becerros débiles (Duran F. 2012).

2.2.2.2.4. Vía sexual

Esta vía tiene poca importancia en la diseminación de la brucelosis en el hato, debido a que el macho deposita el semen en la vagina de la hembra bovina y se ha mostrado que la microbiótica vaginal tiene acción inhibitoria sobre la *brucella abortus*. Además de esto, fue encontrada una proteína en el moco cervicovaginal que protege el útero de la invasión por la *brucella abortus*. Aunque la vía sexual sea una vía de importancia secundaria para la especie bovina, no significa que reproductores infectados puedan ser utilizados sin riesgos. Se recomienda hacer el test de aglutinación del plasma seminal para verificar si existe la presencia de anticuerpos en el semen, lo que constituye un indicativo de comprometimiento de los órganos reproductores por la *brucella*. En las

centrales de inseminación artificial se hace un control riguroso de los reproductores para que se evite la diseminación por esta vía. La transferencia de embriones no presenta riesgo para la receptora, pero si el embrión es implantado en una vaca infectada, podrá ser infectado por la vía transplacentaria (Duran F. 2012).

2.2.2.2.5. Contaminación por el material obstétrico

Todo el material utilizado para exámenes ginecológicos debe ser esterilizado antes de ser utilizado en otro animal, de lo contrario, existe el riesgo de transmisión de enfermedades venéreas (tricomoniasis bovina y campilobacteriosis genital bovina) y también de la brucelosis. Después del parto o aborto la *brucella abortus* continúa siendo eliminada en las secreciones uterinas hasta 30 días, lo que torna las intervenciones ginecológicas una actividad de riesgo para los veterinarios y también para los animales cuando el equipo no es debidamente esterilizado (Duran F., 2012).

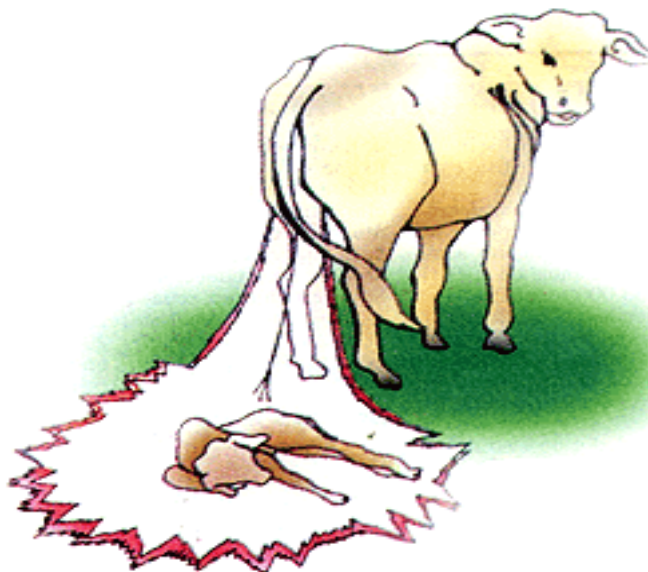
2.2.2.2.6. Vía transfusión sanguínea

Varios agentes infecciosos pueden ser transmitidos por medio de la sangre como la Babesia, anaplasma, *brucella*, retrovirus, por esta razón hay que tener mucho cuidado con el estado sanitario de los animales que serán utilizados como donadores de sangre (Duran F., 2012).

2.2.2.3. Síntomas

Los signos clínicos dependen del estado de inmunidad del rebaño. En las hembras preñadas no vacunadas altamente susceptibles, el signo principal es el aborto pasado el quinto mes de gestación, en preñeces sucesivas suele llegar a término el feto registrándose 2 o 3 abortos en toda la vida productiva de la vaca. Como secuelas se produce retención de placenta y metritis que puede ser aguda con septicemia y muerte, o crónica seguida de infertilidad, llegando a la esterilidad. En machos se observa orquitis y epididimitis, quedando estériles cuando la orquitis es aguda pero pueden recuperar fertilidad si solamente está afectado un testículo convirtiéndose en transmisores de la enfermedad (Díaz M., 2003).

GRÁFICO 2. Aborto



Fuente Experiencias Agroganaderas (2014).

2.2.2.4. Brucelosis Bovina en Ecuador

La brucelosis bovina, considerada en los últimos tiempos, ha tomado mucha importancia entre los servicios y productores que están aunando esfuerzos por definir un plan concreto de combate. Sin embargo, las acciones de lucha se fundamentan en la vacunación de terneras de 3 a 8 meses, en los análisis serológicos que es a solicitud del ganadero y en la eliminación voluntaria de animales reactivos. Según los Laboratorios Veterinarios Izquieta Pérez, Zona Norte, en muestras analizadas a solicitud de los ganaderos, en el año 2004 se han detectado 39 rebaños afectados de brucelosis bovina, en donde 2.206 muestras fueron analizadas, con 332 positivas. En los últimos años se ha creado el Consejo Consultivo de la Brucelosis y Tuberculosis. En la actualidad, con asociaciones de productores se establecerán convenios para el control de estas enfermedades (OIE, 2004).

2.2.2.5. Zoonosis

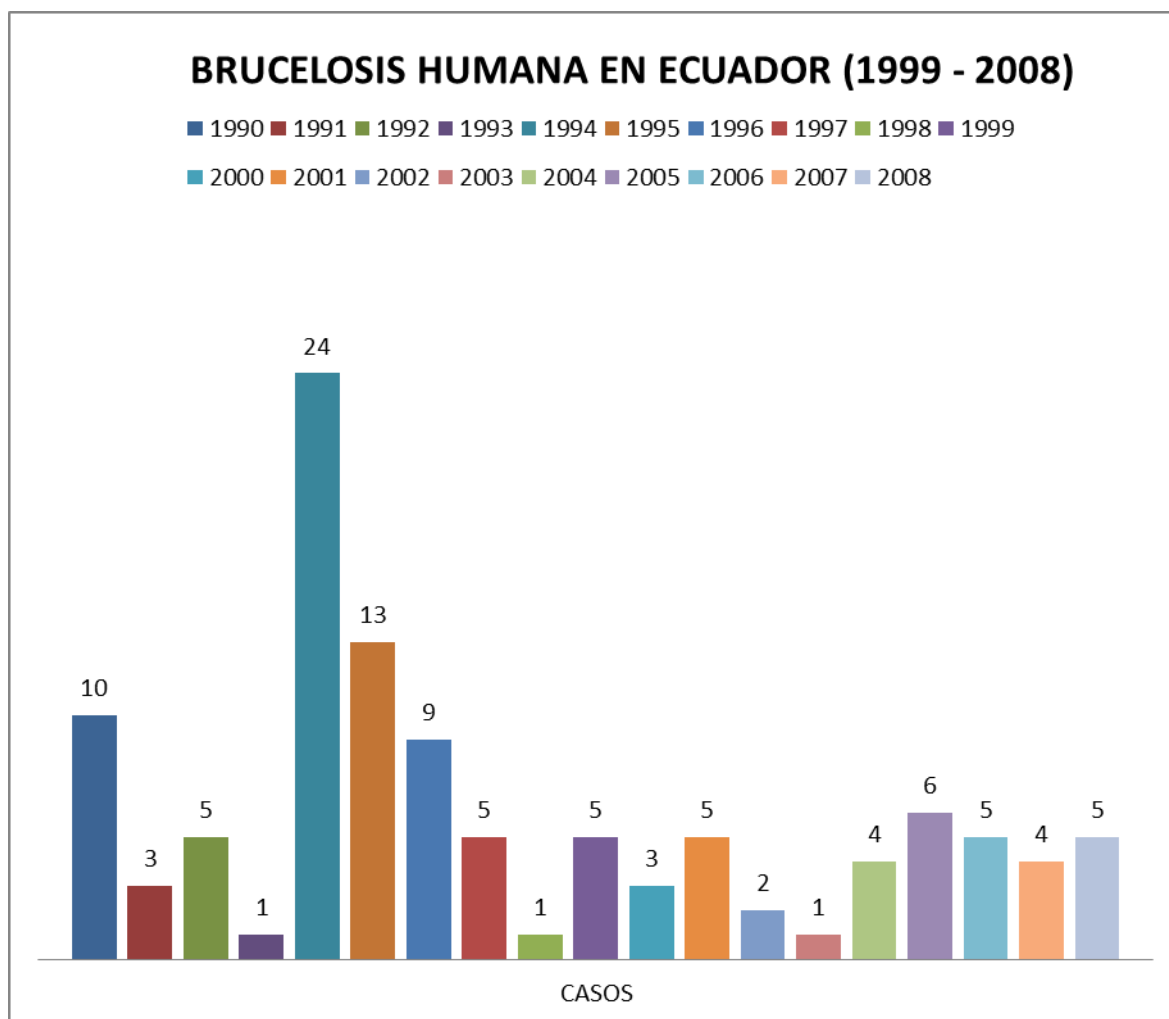
Según investigaciones, medio millón de casos de brucelosis humana aparece cada año en el mundo, la presencia de esta enfermedad tiene relación directa con la prevalencia en los animales infectados con esta enfermedad en las zonas, de aquí que en países como: China,

Israel, Uruguay, Dinamarca, han podido reducir la incidencia de brucelosis humana luego de haber iniciado campañas de vacunación obligatoria en animales (bovinos, caprinos, ovinos, cerdos). La enfermedad es causada en orden de importancia para el hombre por: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. canis* (Díaz M., 2003).

2.2.2.6. Zoonosis en el Ecuador

La brucelosis humana abstracta en Ecuador no se denuncia y se basa únicamente en la vigilancia pasiva. Desde 2008, la brucelosis fue retirada de la lista de enfermedades transmisibles en el país. Hasta ahora, la verdadera imagen de la brucelosis humana aún no ha sido determinada. El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de la enfermedad, identificar los factores de riesgo asociados con la seropositividad de brucelosis en seres humanos, y aislar cepas de *Brucella* spp circulante en la parte noroeste de Ecuador. Entre 2006 y 2008, se realizó una encuesta transecto grande, basado en la extracción de sangre de las personas de la parte noroccidental del Ecuador, junto con una encuesta epidemiológica. Sobre la base de tres pruebas de diagnóstico utilizados en paralelo, la seroprevalencia global fue estimada en 1.88 % (95 % intervalo de confianza. Basado en un análisis de regresión logística multivariable efectos aleatorios, los principales factores de riesgo asociados con la seropositividad brucelosis humana fueron el contacto con el ganado, el consumo de feto y la placenta, y la participación en actividades con riesgo de infección por brucelosis. Se observó variación notable en la seropositividad brucelosis entre los seres humanos dentro de los cantones. La cepa circulante era *Brucella abortus* biotipo 4. Este estudio puso de relieve que el contacto con el ganado, el consumo de feto y la placenta, y el grupo de riesgo ocupacional fueron factores de riesgo significativos para la transmisión de la brucelosis entre los individuos en la parte noroeste de Ecuador. Junto con el fomento de la puesta en marcha de campañas de educación contra la brucelosis, especialmente en las zonas rurales, donde el 36% de la población vive, el control de esta zoonosis en animales beneficiará directamente a su prevención en los seres humanos, sobre todo porque no existe una vacuna segura y eficaz contra la brucelosis en seres humanos (Ron Román J, 2014).

GRÁFICO 3. Brucelosis Humana en Ecuador (1999-2008).

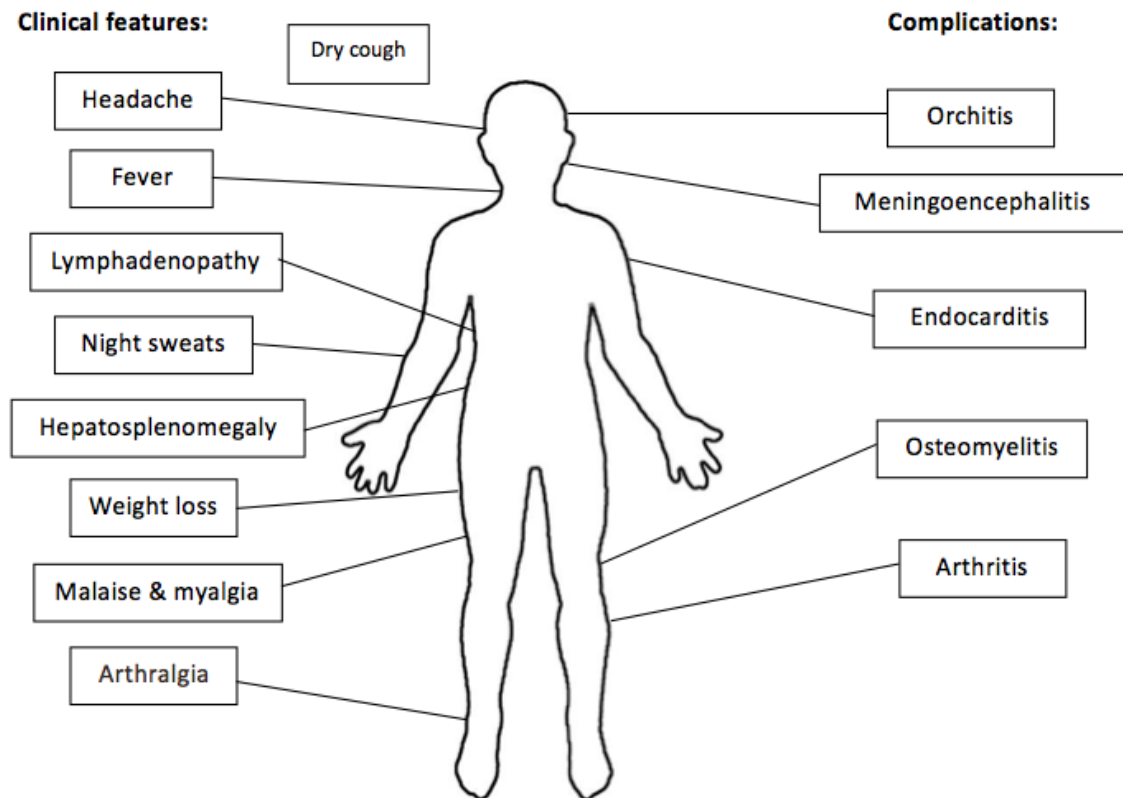


Fuente Ministerio de Salud Pública 2009. (Citado por Ron Román J, 2014).

2.2.2.7. Síntomas en el Humano

En los síntomas principales tenemos la astenia, fiebre continua, intermitente e irregular con la presencia de escalofríos, sudores profusos, insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalgia, artalgia y dolores generalizados. Cuando afecta el sistema nervioso presenta irritación, depresión y nerviosismo. Cuando hay afección del sistema ganglionar hay esplenomegalia, hepatoesplenomegalia, hepatomegalia, rara vez con ictericia. Las recaídas suelen venir acompañadas de encefalitis, meningitis, neuritis periférica, espondilitis, artritis supurativa, endocarditis vegetativa, orquitis, vesiculitis seminal y prostatitis (Díaz M., 2003).

GRÁFICO 4. Síntomas en Humanos



Fuente Lily Stanley (2014).

2.2.3. Pruebas de Diagnóstico

2.2.3.1. Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit

El Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra Bovino Brucella es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos de Brucella abortus en la sangre entera, plasma, suero y leche. La Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra Bovino Brucella tiene una letra "T" y "C" como "Línea de prueba" y "Línea de Control" en la superficie del dispositivo. Tanto la "Línea de Prueba" y la "Línea de Control" en la ventana de resultados no son visibles antes de colocar las muestras. La "Línea de Control" se utiliza como su nombre lo indica para el control de procedimiento. La línea de control debe estar siempre presente si este procedimiento se realiza correctamente, y si los reactivos de la prueba trabajan apropiadamente. La "línea de prueba" se tiñe de morado y será visible en la ventana de resultados si hay suficientes anticuerpos contra Brucella abortus en la

muestra. Los antígenos previamente seleccionados de *Brucella abortus* se utilizan en la prueba tanto como material de captura y material detector. Estos permiten a la Prueba rápida Anigen de Anticuerpos de *Brucella* Ab el identificar anticuerpos contra *Brucella abortus* en muestras, con un alto grado de precisión (Bionote, 2012).

2.2.3.1.1. Materiales

El Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra Bovino *Brucella* contiene los siguientes ítems para realizar la prueba. Diez (10) Kits (cassettes) del Test Rápido Anigen para anticuerpos de *C. Brucella*. Un (1) frasco de Diluyente de la prueba de 3 ml. Diez (10) tubos capilares de 20ul. Instrucciones de uso (Bionote, 2012).

2.2.3.1.2. Precauciones

El Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra Bovino *Brucella* debe almacenarse a temperatura ambiente. El dispositivo multi-ensayo es sensible a la temperatura y la humedad. Realice la prueba inmediatamente después de retirar el dispositivo de la bolsa de aluminio. No la utilice después de la fecha de caducidad (Bionote, 2012).

2.2.3.1.3. Colecta de la Muestra y Almacenamiento

Sangre entera, colectar la sangre completa utilizando un anti-coagulante adecuado. Utilice la sangre dentro de las primeras 24 horas después de la recolección. No use sangre hemolizada. Suero o plasma, centrifugue la sangre para obtener muestras de plasma o suero. Leche, colectar la leche cruda. Si las muestras no son utilizadas de inmediato deben ser refrigeradas a 2 -8 °C. Para mantener las muestras por más de tres días se recomienda congelarlas por debajo de los - 20 °C (suero, plasma). Las muestras deberán estar a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras que contienen precipitado puede dar resultados inconsistentes, por lo que deben filtrarse antes de verificar la prueba (Bionote, 2012).

2.2.3.1.4. Procedimiento

Retire la prueba de la bolsa de aluminio y colóquela sobre una superficie plana y seca. Poco a poco añada una gota ($20 \mu\ell$) con el tubo capilar (la marca de color oscuro indica un volumen de $20 \mu\ell$) de suero, plasma, sangre total o de leche cruda en el orificio de la muestra, a continuación, añada 3 gotas de la botella que contiene el diluyente. Si la migración no aparece después de 1 minuto, añadir una gota más de diluyente en el orificio de la muestra. El resultado de la prueba será observado como una línea púrpura en la ventana de resultado. Interpretar los resultados de la prueba en 20 minutos. No lea después de 20 minutos. Precaución: El lapso para la interpretación se basa en la lectura de resultados de la prueba a una temperatura ambiente de $15 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Si la temperatura ambiente es menor de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, el lapso de la interpretación de resultados debe ser incrementado proporcionalmente (Bionote, 2012). Ver anexo 2, fotografía 3

2.2.3.1.5. Interpretación de la Prueba

- 1) Una línea de color en la sección izquierda de la ventana de resultados muestra que la prueba funciona correctamente. Esta línea es la línea de control (C).
- 2) La sección derecha de la ventana del resultado llamada línea de prueba indica los resultados del examen. (T).

Negativo: La presencia de una sola banda de color púrpura en la ventana del resultado indica un resultado negativo (Bionote, 2012).

FOTOGRAFÍA 6. Resultado Negativo



Fuente Bionote (2012).

Positivo: La presencia de dos bandas de color (banda "C" y banda "T") en la ventana del resultado, sin importar el orden de aparición, indica un resultado positivo (Bionote, 2012).

FOTOGRAFÍA 7. Resultado Positivo



Fuente Bionote (2012).

Inválido: Si ninguna banda de color púrpura es visible en la ventana de resultados, la prueba se considera no válida. Las instrucciones no se han seguido correctamente o los reactivos de la prueba pueden haberse deteriorado. Se recomienda repetir la prueba (Bionote, 2012).

FOTOGRAFÍA 8. Resultados Inválidos



Fuente Bionote (2012).

2.2.3.2. Rosa de Bengala

Esta prueba es una prueba sencilla de aglutinación puntual que utiliza antígeno coloreado con rosa de bengala y tamponado a bajo pH, normalmente $3,65 \pm 0,05$ (37).

2.2.3.2.1. Producción de antígeno

El antígeno para la RBT se prepara depositando células muertas de *B. abortus* S99 o S1119-3, recogidas por centrifugación a 23.000 g durante 10 minutos a 4°C y resuspendiéndolas uniformemente en solución salina fenicada a razón de 1 g por cada 22,5 ml. (Nota: si se utiliza carboximetil celulosa sódica como agente sedimentante durante la preparación del concentrado celular, los residuos insolubles deben eliminarse antes de la tinción filtrando la suspensión por un prefiltro AMF-CUNO Zeta-plus [Tipo CPR 01A]). A

cada 35 ml de esta suspensión se añade 1 ml de rosa de bengala (CI No. 45440) al 1% (p/v) en agua destilada, y la mezcla se agita 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtra por lana de algodón y se centrifuga a 10.000 g para depositar las células teñidas, que a continuación se resuspenden uniformemente a razón de 1 g de células por 7 ml de diluyente (21,1 g de hidróxido sódico disueltos en 353 ml de solución salina con fenol más 95 ml de ácido láctico, que se ajusta a 1.056 ml con solución salina fenicada). El color de esta suspensión debe ser rojo intenso y el sobrenadante de una muestra centrifugada debe carecer de colorante; el pH debe ser $3,65 \pm 0,05$. Después de la filtración por lana de algodón, la suspensión se filtra dos veces a través de un prefiltro de fibra de vidrio Sartorius No. 13430, se ajusta a un PCV de aproximadamente 8%, dependiendo de la estandarización final frente a un suero calibrado contra el OIEISS, y se guarda a 4°C en la oscuridad. El antígeno nunca debe congelarse. Cuando se utiliza en la prueba estándar, el antígeno RBT debe dar una reacción positiva clara con dilución 1/45 del OIEISS diluido en 0,5% de solución salina con fenol, pero no a una dilución de 1/55. También es conveniente comparar la reacción de antígeno nuevo y de lotes previamente estandarizados utilizando un conjunto de sueros definidos (OIE, 2004).

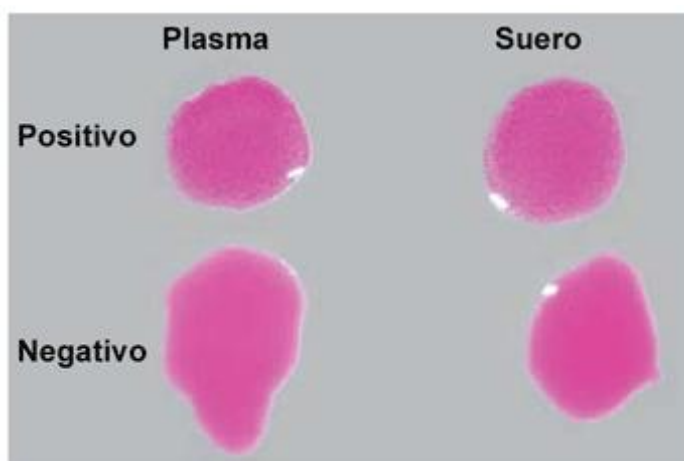
2.2.3.2.2. Procedimiento de la prueba

- I) Llevar las muestras de suero y de antígeno a temperatura ambiente ($22 \pm 4^\circ\text{C}$); solo debe sacarse del refrigerador el antígeno suficiente para las pruebas del día.
- II) Colocar 25-30 μl de cada muestra de suero en una baldosa blanca, placa esmaltada o de plástico, o en una placa para hemaglutinación de la OMS.
- III) Agitar bien la botella de antígeno, pero suavemente, y colocar el mismo volumen de antígeno próximo a la gota de suero.
- IV) Inmediatamente después de añadir la última gota de antígeno en la placa, mezclar cuidadosamente el suero y el antígeno (usando un porta limpio o una varilla de plástico para cada prueba) hasta producir una zona circular u oval de aproximadamente 2 cm de diámetro.
- V) La mezcla se agita suavemente durante 4 minutos a temperatura ambiente en un agitador circular o tridimensional (si la zona de reacción es oval o circular, respectivamente)
- VI) Comprobar la aglutinación tan pronto como se completa el período de 4 minutos. Cualquier reacción visible se considera positiva. Antes de las pruebas de cada día se debe

probar un suero control que origine una reacción positiva mínima para comprobar la sensibilidad de las condiciones de la prueba.

La RBT es muy sensible. Sin embargo, como toda prueba serológica, a veces origina una reacción positiva debido a vacunación con S19 o a reacciones positivas falsas (FPSR). Por tanto, las reacciones positivas deben confirmarse con estrategias confirmativas (que incluyan tanto la realización de otras pruebas como la investigación epidemiológica). Las reacciones negativas falsas se producen muy raramente, sobre todo debido a fenómenos de prozona y en ocasiones se pueden detectar diluyendo la muestra de suero o volviendo a probarla después de un cierto tiempo. Sin embargo, la RBT parece adecuada como una prueba de análisis para detectar rebaños infectados o para garantizar la ausencia de infección en rebaños libres de brucelosis (OIE, 2004).

FOTOGRAFÍA 9. Prueba Rosa de Bengala



Fuente Abel Ortega (2007).

2.2.3.3. Anillo en leche

Detecta la presencia de anticuerpos en la leche. Estos anticuerpos reaccionan con el antígeno coloreado de *Brucella*; forman con él un complejo, que se adhiere a la superficie de los glóbulos de grasa de la leche y que asciende con ellos para formar una capa de crema coloreada. En ausencia de anticuerpos específicos, la capa de crema será blanca y la columna de leche estará coloreada por las células de *Brucella* teñidas que contiene en suspensión (M. Díaz, 2003).

2.2.3.3.1. Toma de muestra

Tan pronto se ha llenado el tarro y antes de que la crema suba, revolver bien el contenido y tomar 50ml de leche. Agregar 1ml de suspensión de formalina al 1% por cada 10ml de leche. Las muestras, bien identificadas, se transportan refrigeradas al laboratorio (Díaz M., 2003).

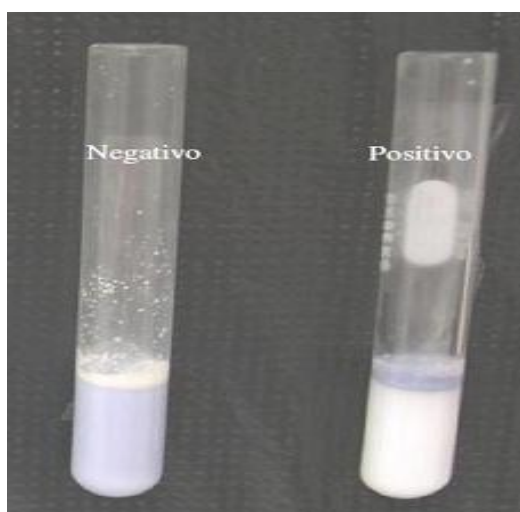
2.2.3.3.2. Procedimiento

Mezclar cada muestra invirtiendo varias veces el recipiente (tubo o frasco). Colocar 1ml de la muestra en un tubo de 12 x 75mm. Agregar una gota (0,03ml) de antígeno de cada tubo, mezclar bien, invirtiendo el tubo varias veces, sin que llegue a formar espuma, no debe quedar antígeno sobre las paredes. Incubar a 37 durante 1 hora (Díaz M., 2003).

2.2.3.3.3. Lectura e interpretación

- : Anillo de crema blanco; columna de leche azul.
- +: Anillo de crema y columna de crema del mismo color; o casi igual.
- ++: Anillo de crema de color más pronunciado que la columna de leche.
- +++ : Anillo de crema azul oscuro; la columna de leche tiene aun un poco de color.
- ++++: Anillo de crema azul oscuro; la columna de leche es blanca (Díaz M., 2003).

FOTOGRAFÍA 10. Prueba Anillo en Leche



Fuente A.M. Acosta (2011).

2.3. HIPÓTESIS

El desarrollo del método Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit, puede ser aplicado en la detección de la Brucelosis (*Brucella*) en vacas lecheras del Camal Municipal del Cantón Ambato.

El desarrollo del método Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit, no puede ser aplicado en la detección de la Brucelosis (*Brucella*) en vacas lecheras del Camal Municipal del Cantón Ambato.

2.4. VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

2.4.1. Variable dependiente

Incidencia.

2.4.2. Variable independiente

Diagnóstico de Brucelosis en vacas lecheras destinadas a faenamiento.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El siguiente estudio se realizará: mediante un enfoque cuantitativo (es de carácter cuantitativo cuando se pueden asignar valores mediante escalas valorativas con valor numérico por ejemplo el número de hermanos y la estatura, siendo la base para elaborar estadísticas); con modalidad de campo (hace referencia a que se pueden aplicar encuestas mediante un cuestionario previamente formulado, mismo que será aplicado a personas relacionadas con la ganadería bovina particularmente para en este caso); bibliográfica documental (es de tipo bibliográfica cuando la información está sustentada en base a fuentes bibliográficas de información como libros, revistas, Internet, expertos de donde será extraída el máximo de su información); con un tipo experimental (cuando se puede comprobar y realizar una aplicación práctica de la información teórica recopilada) y explicativo (se basa en la información y en la investigación obtenida y recopilada para ser analizada, razonada y criticada para posteriormente poder plantear nuevas propuestas o alternativas).

3.2 UBICACIÓN DEL ENSAYO

Esta investigación se realizó en el cantón Ambato, provincia de Tungurahua, en el Camal Municipal que se encuentra a una altitud de 2.577 msnm; con una latitud $78^{\circ} 37' 11''$ con relación al Meridiano de Greenwich y a $1^{\circ} 13' 28''$ con relación a la Línea Equinoccial.

3.3 CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR

El clima del cantón Ambato es un clima templado, debido a que se ubica en un estrecho valle andino; Ambato se divide en 3 zonas; sur, centro y norte; la temperatura oscila desde los 12 a los 30° C.

3.4. FACTORES DE ESTUDIO

3.4.1. Muestras de sangre

60 muestras de sangre de bovinos hembra completamente al azar, para ser utilizada con el método de Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit y lograr un diagnóstico rápido.

3.5. DATOS TOMADOS

3.5.1. Lugar de origen y propietario

Se revisó la ficha de cada bovino que se tomó la muestra para saber su lugar de origen y propietario.

3.5.2. Raza

Se anotó la raza de los bovinos utilizados en la investigación.

3.5.3. Resultados del Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit

Se recolectó la información de los resultados obtenidos con el test.

3.6. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN

3.6.1. Análisis crítico y discriminación de información sesgada

Una vez recolectada la información se observó con detenimiento cada uno de los resultados obtenidos, todos los datos se sujetaron a la realidad.

3.6.2. Ordenamiento, tabulación y/o graficación

Los datos analizados críticamente se ordenaron y tabularon donde consta lugar de origen, raza y resultados del Anigen test kit.

3.6.3. Verificación de hipótesis

Se pudo comprobar que el desarrollo del método Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit, puede ser aplicado en la detección de la Brucelosis (*Brucella*) en vacas lecheras del Camal Municipal del Cantón Ambato.

3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.7.1. Materiales

Para realizar cada prueba se necesita 1 jeringuilla con aguja número 18, un tubo vacutainer con EDTA (ácido etilendiaminotetracético), un par de guantes de exanimación, algodón y alcohol para desinfectar la zona y el Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra Bovino Brucella que contiene: el Kit (cassette) del Test Rápido Anigen para anticuerpos de C. Brucella, un (1) frasco de diluyente de la prueba de 3 ml y el tubo capilar de 20ul.

FOTOGRAFÍA 11. Materiales



Fuente María José Benítez (2013).

3.7.2. Precauciones

El Kit de Prueba Rápida Anigen debe almacenarse a temperatura ambiente, es sensible a la temperatura y la humedad por lo que realice la prueba inmediatamente después de retirar el dispositivo de la bolsa de aluminio.

3.7.3. Colecta de la muestra y almacenamiento

Se realizó la sujeción del animal. Identificación del animal (número de arete, señas particulares). Se tomó 2 cc de la muestra de sangre de la vena coccígea, por medio de una jeringuilla con aguja del número 18, previa a la desinfección y limpieza de la zona. Se vació la muestra de sangre en un tubo vacutainer con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetracético), el mismo que se identificó en relación al vacuno, y se anotaron los datos a la hoja de campo.

FOTOGRAFÍA 12. Colecta de Muestra



Fuente María José Benítez (2013).

3.7.4. Procedimiento

Retiré la prueba de la bolsa de aluminio y coloqué sobre una superficie plana y seca. Poco a poco añadí una gota ($20 \mu\ell$) con el tubo capilar (la marca de color oscuro indica un volumen de $20 \mu\ell$) de sangre de la vena coccígea en el orificio de la muestra del cassette del kit, a continuación, añadí 3 gotas de la botella que contiene el diluyente. Si la migración no aparece después de 1 minuto, se añade una gota más de diluyente en el orificio de la muestra. Observé el resultado de la prueba como una línea púrpura en la ventana de resultado. Interpreté los resultados de la prueba en 20 minutos. El lapso para la interpretación se basa en la lectura de resultados de la prueba a una temperatura ambiente de $15 -30 \text{ }^\circ\text{C}$. Si la temperatura ambiente es menor de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, el lapso de la interpretación de resultados debe ser incrementado proporcionalmente.

FOTOGRAFÍA 13. Adición de Muestra



Fuente María José Benítez (2013).

FOTOGRAFÍA 14. Adición de Reactivo



Fuente María José Benítez (2013).

3.7.5. Interpretación de la Prueba

- 1) Una línea de color en la sección izquierda de la ventana de resultados muestra que la prueba funciona correctamente. Esta línea es la línea de control (C).
- 2) La sección derecha de la ventana del resultado llamada línea de prueba indica los resultados del examen. (T).

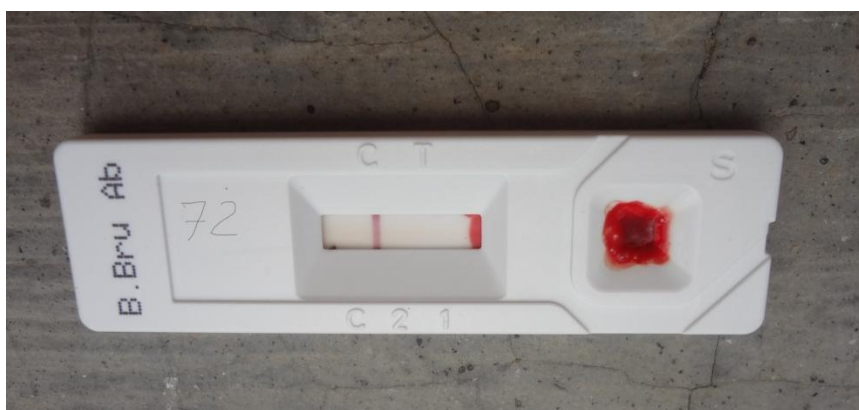
Negativo: La presencia de una sola banda de color púrpura en la ventana del resultado indica un resultado negativo. Ver anexo 2, fotografías 10 y 11.

Positivo: La presencia de dos bandas de color (banda "C" y banda "T") en la ventana del resultado, sin importar el orden de aparición, indica un resultado positivo. Ver anexo 2, fotografía 12.

Inválido: Si ninguna banda de color púrpura es visible en la ventana de resultados, la prueba se considera no válida. Las instrucciones no se han seguido correctamente o los reactivos de la prueba pueden haberse deteriorado. Se recomienda repetir la prueba. Ver anexo 2, fotografía 13.

En el caso de mi experimento en el Camal Municipal de Ambato, todos los resultados obtenidos fueron negativos.

FOTOGRAFÍA 15. Resultado Negativo



Fuente María José Benítez (2013).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. LUGAR DE ORIGEN

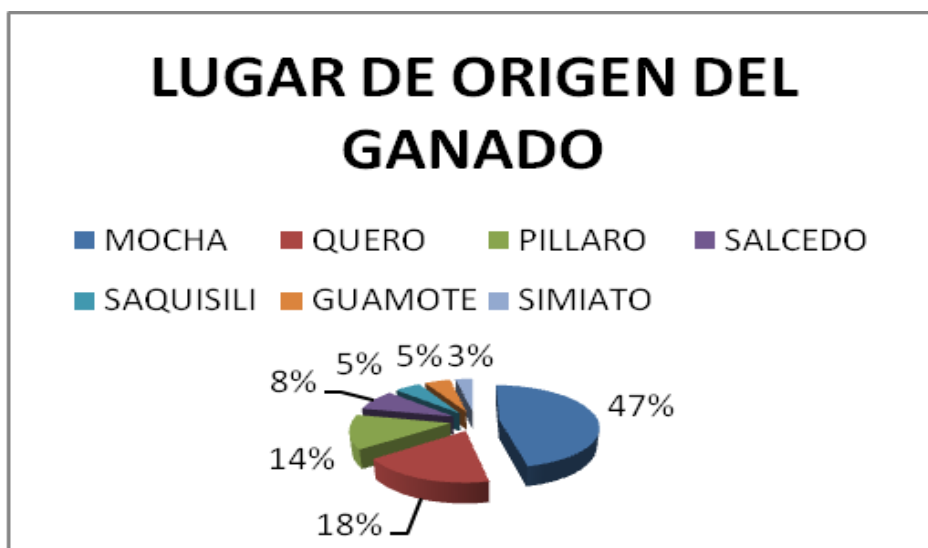
En el anexo 1 se muestra los datos recolectados de las fichas de cada bovino, con los datos de sus introductores y el lugar de origen o procedencia de dichos animales. Mediante estos resultados se pudo hacer el análisis porcentual de los mismos. Teniendo un mayor porcentaje del 47% el cantón Mocha y el de menor porcentaje Simiato con el 3%. La gran mayoría de bovinos hembras faenados en el Camal Municipal son de cantones cercanos a Ambato.

CUADRO 2. Porcentaje de los Lugares de Origen de los Bovinos Testeados

LUGAR	NUMERO	PORCENTAJE
MOCHA	28	47%
QUERO	11	18%
PILLARO	8	14%
SALCEDO	5	8%
SAQUISILI	3	5%
GUAMOTE	3	5%
SIMIATO	2	3%
TOTAL	60	100%

Fuente María José Benítez (2013).

GRÁFICO 5. Porcentaje de los Lugares de Origen de los Bovinos Testeados



Fuente María José Benítez (2013).

4.2. RAZA

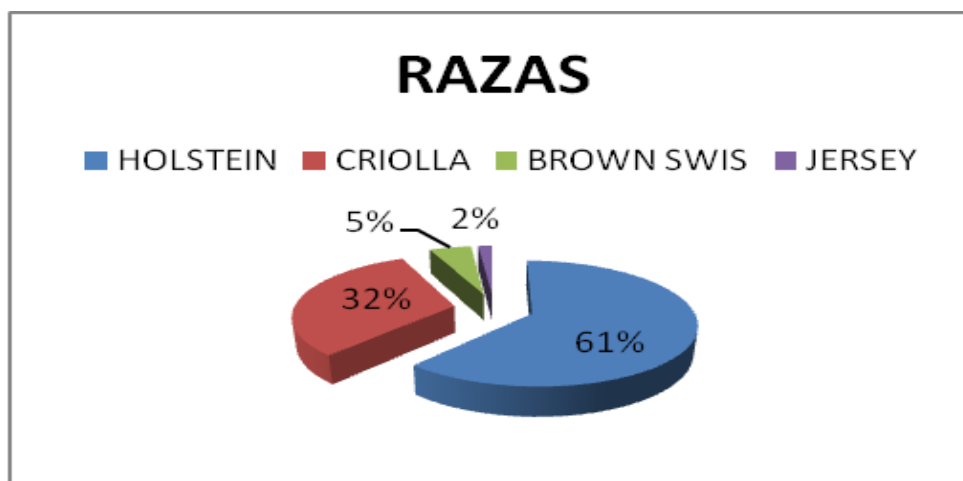
En el anexo 1 se muestra las diferentes razas que identificamos al momento de la toma de muestras. Teniendo con un alto porcentaje 61% la raza Holstein que es la raza lechera de mayor preferencia en la sierra.

CUADRO 3. Porcentaje de la Razas de los Bovinos Testeados

RAZAS	NUMERO	PORCENTAJES
HOLSTEIN FRIESAN	37	61%
CRIOLLA	19	32%
BROWN SWISS	3	5%
JERSEY	1	2%
TOTAL	60	100%

Fuente María José Benítez (2013).

GRÁFICO 6. Porcentaje de las Razas de los Bovinos Testeados



Fuente María José Benítez (2013).

4.3. RESULTADOS DEL ANIGEN TEST KIT

En el anexo 1 se muestran los resultados de los test realizados en 60 bovinos hembras en el Camal Municipal de Ambato, dándonos como resultado 60 muestras negativas.

4.4. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Los resultados obtenidos en la investigación del diagnóstico de la Brucelosis Bovina, permiten comprobar la hipótesis planteada, debido que es posible la aplicación del desarrollo del Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit, en la detección de la Brucelosis (*Brucella*) en vacas lecheras destinadas al sacrificio en el Camal Municipal del Cantón Ambato.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio se estableció que no se presenta Brucelosis en los bovinos que llegan a ser faenados en el Camal Municipal de Ambato.

La realización de repetición del test a un mismo animal dio el mismo resultado, se puede decir que Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit es una buena alternativa en un diagnóstico rápido para Brucelosis Bovina.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda el diagnóstico con Anigen test kit en todos los animales antes de ser faenados en el Camal Municipal, para procurar disminuir el riesgo de contagio de los trabajadores del camal y consumidores finales.

Hacer conocer este test kit 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.

Realizar una investigación mediante el método diagnóstico de Anigen test kit y un método comparativo en los diferentes cantones de los que provienen la mayoría de animales que son faenados en el Camal Municipal de Ambato.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. TÍTULO

Aplicación de Anigen Rapid B. Brucella Ab. Test Kit, como método diagnóstico de la Brucelosis bovina antemortem en los animales destinados a sacrificio en el Camal Municipal de Ambato.

6.2. FUNDAMENTACIÓN

Anigen rápida Brucella Ab B. Test Kit es una cromatografía de inmunoensayo para la detección cualitativa de anticuerpos contra *Brucella abortus* en sangre, plasma, suero y leche. La brucelosis bovina es comúnmente causada por *Brucella abortus* y con menos frecuencia por *B. melitensis*, y rara vez por *B. suis*. La infección es generalizada a nivel mundial. Los seres humanos pueden ser infectados por contacto con animales o productos animales contaminados con estas bacterias. Pruebas serológicas disponibles incluyen la Rosa de Bengala, ELISA, prueba de fijación del complemento y prueba de aglutinación del tubo. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen un diagnóstico rápido y cada uno requiere de laboratorios especializados y equipos. El nuevo Anigen inmunocromatográfica rápida ensayo fue desarrollado para proporcionar información exacta, rápida y fácil que a sido comparada con la prueba de Rosa de Bengala y la prueba del Anillo en leche. La precisión global es igual o mayor a 97,0% (Bionote, Inc, 2012).

6.3. OBJETIVOS

6.3.1. Objetivo General

Dar a conocer los beneficios del diagnóstico rápido de la Brucelosis Bovina, para su decomiso antes de entrar a faenamiento.

6.3.2. Objetivo Específico

Aplicar el método Anígen Rapid B. *Brucella* Ab. Test Kit para el diagnóstico precoz de la Brucelosis (*Brucella*) Bovina (*Bóvido*) en el Camal Municipal de Ambato.

6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Tiene una proyección no solo de salud pública sino también económica ya que con el diagnóstico específico de esta enfermedad se busca no solo erradicar o controlar la enfermedad sino también realizarlo con un método de diagnóstico rápido que permita la menor pérdida económica para el introductor.

Que, de acuerdo a la Ley de Sanidad Animal, artículo N° 2, el SESA es el responsable de establecer, formular, coordinar, supervisar y evaluar las acciones de prevención, control y erradicación de la brucelosis de los animales domésticos en el territorio nacional.

Que, la Brucelosis es una enfermedad de los animales domésticos y otras especies susceptibles, que afecta la capacidad reproductiva, ocasiona abortos y disminuye la producción lechera, lo cual ocasiona pérdidas económicas a los productores. La brucelosis ha sido diagnosticada en el país, y de acuerdo a la OIE, está considerada como una enfermedad de control oficial y de declaración obligatoria, es además una enfermedad zoonótica, que puede ser transmitida de los animales enfermos a los humanos, mediante el consumo de leche, carne y productos crudos contaminados.

Declarar obligatoria la denuncia de la sospecha o presencia de la brucelosis bovina, en predios, haciendas, granjas, ferias de comercialización y/o exposición, laboratorios de diagnóstico veterinario, u otro lugar del territorio nacional; las denuncias deberán realizarse en cualquiera de las oficinas del SESA a nivel de país.

6.5. IMPLEMETACIÓN / PLAN DE ACCIÓN

6.5.1. Identificación de animales sospechosos en corrales

Mediante un examen clínico, observando muy cuidadosamente todos los animales en los corrales de descanso, identificar cuáles podrían ser los posibles sospechosos a examinar, más detenidamente.

6.5.2. Sujeción

Se sujetará al animal de manera que permita tomar la muestra sin ningún peligro.

6.5.3. Preparación del médico veterinario

Tomar las precauciones necesarias, utilizando guantes al tomar la muestra, desinfectar la zona de la toma de muestra, teniendo preparado el material a utilizar.

6.5.4. Toma de la muestra

Se toma la muestra de sangre venosa de la vena yugular o de la caudal, por medio de una jeringuilla con aguja del número 18, previa a la desinfección y limpieza de la zona. Se vacía la muestra de sangre en un tubo vacutainer con anticoagulante, el mismo que se identificara en relación al vacuno, y anotar los datos en la hoja de campo.

6.5.5. Diagnóstico mediante anigen test kid

Tomamos con 1 pipeta un volumen de 20 ul (2gotas) de sangre y depositamos en la zona específica del anigen test Kit, y seguido adicionamos 3 a 4 gotas del reactivo de anigen test kit y se espera 20 minutos para leer el resultado. Una vez realizado el test se anotó en la hoja de registro si el vacuno presenta o no la enfermedad.

6.5.6. Dictámenes y decomisos

Se aplicaran los dictámenes o decomisos según la ley de mataderos, y basados en el criterio del médico veterinario y por la interpretación del resultado del anigentest kid. Emitiendo el informe a las autoridades pertinentes, ya que la Brucelosis Bovina es una enfermedad de declaración obligatoria.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Acosta, Clara. "Manual Agropecuario" 1ª Edición, Editorial Biblioteca del Campo. Colombia. 2002.
2. Akakpo, A. J. "Brucellosis animales en Afrique tropical. Particularités, epidemiologique, clinique e bacteriologique. Rev. Eler Med. Pays Trop. 40:307. 1991.
3. Blood D., Henderson J., Radostits O. Enfermedades Causadas por Diversas Especies de Brucella. In Unknown Ed. Medicina Veterinaria Interamericana. México. 1985.
4. Castro H., González S. & Prat M. "Brucelosis: una Revisión Práctica Acta Bioquímica". Clínica. Latinoamericana Vol 39 N°2. Buenos Aires. 2005.
5. Cotrina, N.; Fernández, A. "brucelosis, problema sanitario y económico". Ed. Científico Técnico. La Habana. 1991.
6. Delgado, M. G.; Centorbi, O. P. "Estudio serológico de la brucelosis en áreas rurales de la provincia de San Luis, Argentina". Universidad Nacional de Chacabuco, San Luis. Argentina. Rev. Medicina Veterinaria de Buenos Aires. 71 (2): 74-78. 1990.
7. Días Miranda. "Manual de Enfermedades Infecciosas en el Ganado Bovino de la Zona Central del Litoral Ecuatoriano". INEAP. Los Ríos-Ecuador. 2003.
8. Durán Felipe. "Complemento Manual del Ganadero Actual". Tomo 3. 1ª Edición. Grupo Latino Editores. Colombia 2012.
9. Durán Felipe. "Volvamos al Campo Manual del Ganadero Actual". Tomo 1. 2ª Edición. Grupo Latino Editores. Colombia 2001.
10. Escobar, E." Participación de la salud pública veterinaria en la atención de desastres naturales". Centro Panamericano de Zoonosis. 1990.
11. Guerrero Alfonso. "Producción Bovina: Evaluación Reproductiva". FESC-C4 UNAM, Tizayuca- México. 1996.
12. Koeslag Johan H. "Manual para Educación Agropecuaria, Bovino de Leche". Editorial Trillas. MEXICO DF. 1988.
13. Molina Carlos. "El Ganado Lechero Ecuatoriano a través de la Historia". Quito. 1985.
14. Pinzon M. E. "La Orinequia Colombiana y su Ganado Llanero". Colombia. 1993.

15. Salamanca Arcesio. "Contribución al Estudio de la Raza Criolla Casanare en el Departamento de Arauca". Tesis Zootecnista. UNIAGRARIA. Colombia. 1995.

LINKOGRAFÍA CONSULTADA

1. Bionote. “B. brucella Ab”. www.bionote.co.kr. Marzo. 2012.
2. Desarrollo y Defensa 2008 <http://desarrolloydefensa.blogspot.com/2008/06/ganado-vacuno-raza-jersey.html>
3. Experiencia Agroganadera de un Biólogo 2014.
<http://blogdeganadero.blogspot.com/2014/02/brucelosis-bovina.html>
4. Infolactea 2010
http://www.infolactea.com/noticias_detail.php?not_id=747&tp_id=3
5. Jerland 2003 <http://www.jerland.com/swiss/pedigree/tassel.html>
6. López A. “Brucella”. 2007. <http://biblioweb.unam.mx/libros/microbios/cap7/>
7. Lottersberger J., Pauli R. y Vanasco N. “Diagnóstico de Brucelosis Bovina”. Santa Fe. 2004. www.producción-animal.com.ar
8. OIE. “Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para Animales Terrestres. 5ª Edición. 2004. www.oie.int/esp
9. OIE. “Sanidad Animal Mundial”. 2004. ftp://ftp.oie.int/SAM/2004/ECU_E.pdf
10. Ortega Abel 2007.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342007000400013
11. Redacción El Santafesino. “Brucelosis”. 2005.
www.elsantafesino.com/sociedad/2005/12/14/4133
12. Ron Román J.” Human Brucellosis in Northwest Ecuador: Typifying Brucella spp., Seroprevalence, and Associated Risk Factors”. Vector Borne Zoonotic Diseases. 2014. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24410144
13. Ron Román J.” Situación Epidemiológica de la Brucelosis en el Ecuador” 2013.
www.uce.edu.ec/documents/22824/3345278/Curso%20Introduccion%20Epidemiologia%20C3%B3a%20FMZ%20UCE%202014.pdf
14. Stanley Lily 2014. <http://almostadoctor.co.uk/content/Systems/Infectious-Disease/brucellosis>
15. Vetnext 2013.
<http://www.vetnext.com/search.php?s=aandoening&id=73084447169%20144>
16. World Holstein Friesian Federation 2010. <http://www.whff.info/events/champions-eu.php>

ANEXO N° 1 REGISTRO DE LA TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE

N°	FECHA	N° DEL INTRODUTOR	NOMBRE INTORDUCTOR	RAZA	LUGAR DE ORIGEN	N° DE PRUEBA	TIPO DE MUESTRA	RESULTADO
1	20/11/2011	70	ALARCON JESUS	HOLSTEIN	QUERO	1	SANGRE	(-)
2	20/11/2011	80	VELASCO ALVARO	HOLSTEIN	SIMIATO	1	SANGRE	(-)
3	22/11/2011	111	CHANGO GERMAN	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
4	03/12/2011	72	PAREDES HOLGER	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
5	03/12/2011	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
6	03/12/2011	72	PAREDES HOLGER	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
7	10/12/2011	42	VILLACIZ MARIO	CRIOILLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
8	10/12/2011	33	SANCHEZ SANTIAGO	CRIOILLA	GUAMOTE	1	SANGRE	(-)
9	17/12/2011	20	AYME BENITO	CRIOILLA	SAQUISILI	1	SANGRE	(-)
10	17/12/2011	33	SANCHEZ SANTIAGO	CRIOILLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
11	17/12/2011	94	PAREDES INDOLFO	CRIOILLA	GUAMOTE	1	SANGRE	(-)
12	07/01/2012	90	DURAN FERNANDO	HOLSTEIN	SALCEDO	1	SANGRE	(-)
13	07/01/2012	90	DURAN FERNANDO	HOLSTEIN	SALCEDO	1	SANGRE	(-)
14	07/01/2012	111	CHANGO GERMAN	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
15	07/01/2012	76	LAGUA CESAR	CRIOILLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
16	21/01/2012	42	VILLACIZ MARIO	HOLSTEIN	PILLARO	3	SANGRE	(-)
17	21/01/2012	42	VILLACIZ MARIO	JERSEY	PILLARO	1	SANGRE	(-)
18	11/02/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	QUERO	1	SANGRE	(-)
19	11/02/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	QUERO	1	SANGRE	(-)
20	11/02/2012	42	VILLACIZ MARIO	HOLSTEIN	SIMIATO	2	SANGRE	(-)
21	11/02/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
22	11/02/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
23	18/02/2012	111	CHANGO GERMAN	CRIOILLA	SALCEDO	1	SANGRE	(-)
24	18/02/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
25	18/02/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
26	10/03/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
27	10/03/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
28	10/03/2012	42	VILLACIZ MARIO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
29	10/03/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
30	22/03/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
31	22/03/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOILLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
32	20/04/2012	111	CHANGO GERMAN	CRIOILLA	SALCEDO	1	SANGRE	(-)
33	20/04/2012	104	SANTANA JUAN	BRON SWIS	SALCEDO	1	SANGRE	(-)
34	20/04/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
35	20/04/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
36	02/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
37	02/05/2012	42	VILLACIZ MARIO	HOLSTEIN	QUERO	1	SANGRE	(-)

38	02/05/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOLLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
39	07/05/2012	33	SANCHEZSANTIA GO	CRIOLLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
40	07/05/2012	94	PAREDES INDOLFO	CRIOLLA	GUAMOTE	1	SANGRE	(-)
41	07/05/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOLLA	MOCHA	1	SANGRE	(-)
42	07/05/2012	20	AYME BENITO	BRON SWIS	SAQUISILI	1	SANGRE	(-)
43	07/05/2012	20	AYME BENITO	BRON SWIS	SAQUISILI	1	SANGRE	(-)
44	07/05/2012	39	LOPEZ JOSE	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
45	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
46	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
47	09/05/2012	72	PAREDES HOLGER	CRIOLLA	QUERO	1	SANGRE	(-)
48	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
49	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
50	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
51	09/05/2012	33	SANCHEZ SANTIAGO	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
52	12/05/2012	72	PAREDES HOLGER	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
53	12/05/2012	39	LOPEZ JOSE	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
54	17/05/2012	15	TELENCHANA MARIA	HOLSTEIN	QUERO	1	SANGRE	(-)
55	17/05/2012	39	LOPEZ JOSE	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
56	17/05/2012	44	MEDINA JOSE	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
57	17/05/2012	44	MEDINA JOSE	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
58	18/05/2012	111	CHANGO GERMAN	HOLSTEIN	PILLARO	1	SANGRE	(-)
59	18/05/2012	72	PAREDES HOLGER	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)
60	18/05/2012	72	PAREDES HOLGER	HOLSTEIN	MOCHA	1	SANGRE	(-)

Fuente: María José Benítez (2013).

ANEXO Nº 2 FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA Nº 1



CORRALES CAMAL MUNICIPAL DE AMBATO

FOTOGRAFÍA Nº 2



SUJECIÓN

FOTOGRAFÍA N° 3



INMOVILIZACIÓN

FOTOGRAFÍA N° 4



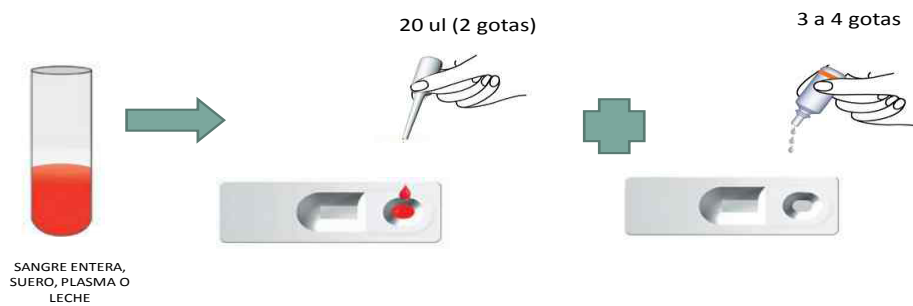
DESINFECCIÓN ZONA A TOMAR MUESTRA

FOTOGRAFÍA N° 5



TOMA DE MUESTRA DE VENA COCCIGEA

FOTOGRAFÍA N° 6



PROCEDIMIENTO

FOTOGRAFÍA N° 7



COLOCACIÓN DE MUESTRA EN KIT

FOTOGRAFÍA N° 8



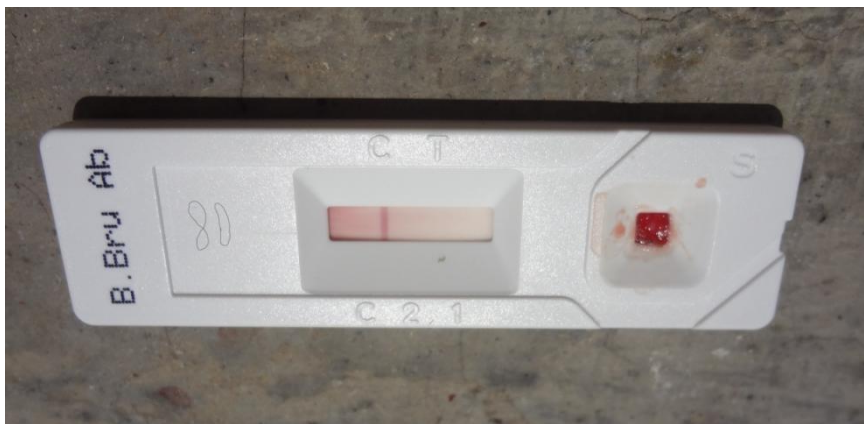
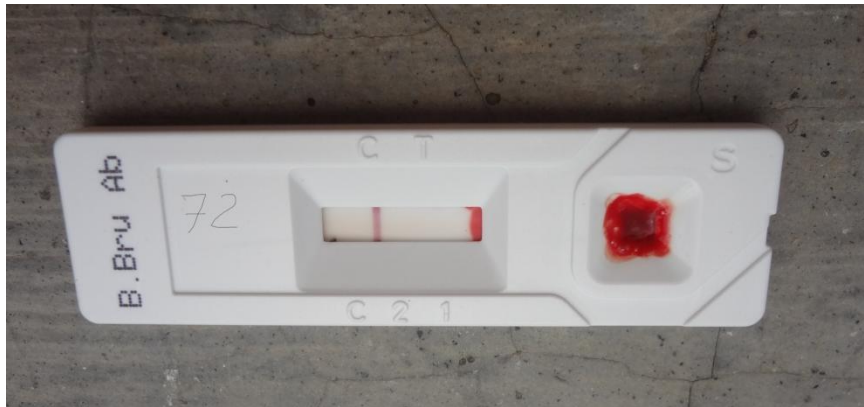
COLOCACIÓN DE REACTIVO EN KIT

FOTOGRAFÍA N° 9



ESPERA DE RESULTADOS

FOTOGRAFÍA N° 10



RESULTADOS NEGATIVOS

FOTOGRAFÍA N°11



RESULTADO NEGATIVO

FOTOGRAFÍA N°12



RESULTADO POSITIVO

FOTOGRAFÍA N°13



RESULTADOS INVÁLIDOS