

TÍTULO

BRUCELOSIS, PRESENCIA EN VACAS (2 A 6 AÑOS) MEDIANTE CARD TEST, EN TRES HACIENDAS, RCTO. PAJALES, CANTÓN PEDERNALES, PROVINCIA DE MANABÍ.

AUTOR

LLAGUNO TOVAR GONZALO GABRIEL

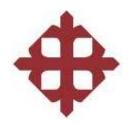
PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TUTOR

Dr. Andrade Ortiz Aníbal

GUAYAQUIL

2015



CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por **Gonzalo Gabriel LLaguno Tovar**, como requerimiento parcial para la obtención de título de **Médico Veterinario y Zootecnista**.

TUTOR (A)

	Dr. Andrade Ortiz Aníbal.
	TUTOR
	DIRECTOR DE LA CARRERA
Ing. John Franco Eloy MSc.	

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2015



DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Gonzalo Gabriel LLaguno Tovar

DECLARO QUE:

El trabajo de titulación: "BRUCELOSIS, PRESENCIA EN VACAS (2 A 6 AÑOS) MEDIANTE CARD TEST, EN TRES HACIENDAS, RCTO. PAJALES, CANTÓN PEDERNALES, PROVINCIA DE MANABÍ" previa la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan al pie de las paginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2015

EL AUTOR

 Gonzalo Gabriel I Laguno Tovar



AUTORIZACIÓN

Yo, Gonzalo Gabriel LLaguno Tovar

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación "BRUCELOSIS, PRESENCIA EN VACAS (2 A 6 AÑOS) MEDIANTE CARD TEST, EN TRES HACIENDAS, RCTO. PAJALES, CANTÓN PEDERNALES, PROVINCIA DE MANABÍ", cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2015

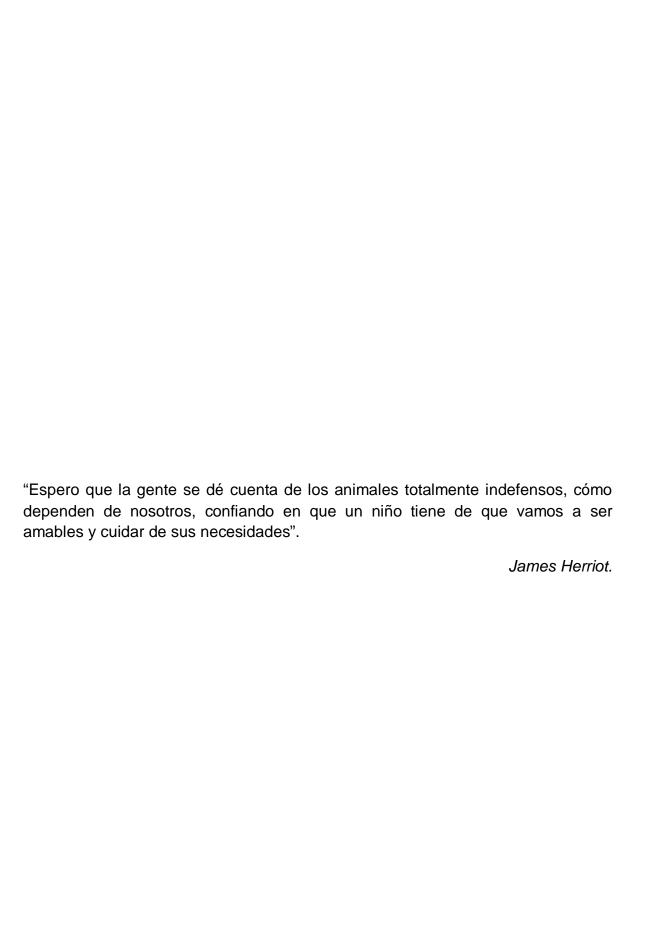
EL AUTOR

Gonzalo Gabriel LLaguno Tovar

AGRADECIMIENTO

Debo agradecer a mis papas Gonzalo Ubaldo LLaguno Figueroa y Raquel María Tovar Páez por su apoyo incondicional tanto en lo económico como sentimental, por confiar en mí, en que lograría mi objetivo, a mis hermanos Natalia por darme la dicha y el honor de ser tío, a Cristina por hacerme reír y en especial a mi hermanito Fernando LLaguno que con su forma de pensar y sus ideas inspiran mi vida a creer que el mundo puede cambiar, a Suzzett Sabando por todo el apoyo, el cariño y la confianza que depositas en mí y a tu hermosa familia.

A MI HERMANO





CALIFICACIÓN

Dr. MVZ. Aníbal Andrade Ortiz. **TUTOR**

ÍNDICE O	BENERAL	Pág.
	Paginas preliminares	
	Agradecimiento	1
	Dedicatoria	II
	Pensamiento	III
	Calificación	IV
	RESUMEN	
	ABSTRACT	
1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Antecedentes	2
1.2	Planteamiento y formulación del problema.	5
1.3	Objetivos.	4
1.3.1	Objetivo General	4
1.3.2	Objetivos específicos.	4
1.4	Hipótesis.	4
1.5	Justificación.	4
2	REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
2.1	Brucelosis	6
2.1.1	Brucella abortus, generalidades.	7
2.1.2	Distribución Geográfica.	7
2.1.3	Características morfológicas.	8
2.1.4	Taxonomía.	9

2.1.5	Trasmisión.	10
2.1.6	Patogenia.	11
2.1.7	Signos y síntomas.	11
2.1.8	Respuesta inmune contra Brucella abortus.	12
2.1.8.1	Inmunidad innata.	12
2.1.8.2	Inmunidad adaptativa.	13
2.1.9	Factores de riesgo.	13
2.1.10	Control	14
2.1.10.1	Inmunización contra Brucelosis	14
2.1.10.1.1	Cepa 19.	15
2.1.10.1.2	Cepa RB51.	15
2.1.10.1.3	Ventajas de un predio libre de brucelosis bovina.	17
2.1.11	Diagnostico	17
2.1.11.1	Diagnostico serológico	18
2.1.11.1.1	Pruebas Primarias o de Screening	18
2.1.11.1.1.1	Rosa de bengala	18
2.1.11.1.1.2	Anillo de leche.	19
2.2.11.1.2	Pruebas secundarias o confirmatorias	19
3	MARCO METODOLÓGICO	20
3.1	Diseño metodológico.	20
3.2	Tipo de investigación.	20

3.3	PROCEDIMIENTO DE CAMPO.	20
3.3.1	Ubicación del ensayo	20
3.3.2	CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS.	21
3.3.3	MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.3.3.1	Materiales.	22
3.3.3.1.1	Materiales de campo	22
3.3.3.1.1.1	Biológicos:	22
3.3.3.1.1.2	Físicos:	22
3.3.3.1.1.3	Químicos:	23
3.3.3.1.2	Materiales de laboratorio	23
3.3.3.1.2.1	Biológicos	23
3.3.3.1.2.2	Físicos	23
3.3.3.1.2.3	Químicos	23
3.3.3.1.3	Materiales de escritorio:	23
3.3.4	TRATAMIENTO EN ESTUDIO.	24
3.3.5	MANEJO DEL EXPERIMENTO	25
3.3.5.1	MÉTODO DE LABORATORIO	25
3.3.5.1.1	Prueba Card test o rosa de bengala para el diagnóstico de brucelosis.	25
3.3.5.1.2	Procedimiento en estudio.	25
3.3.5.1.2.1	Instrucciones.	26

4	Resultados.	28
4.1	Análisis por haciendas	29
4.1.1	Hacienda: Tres princesas	29
4.1.2	Hacienda: La rosita	33
4.1.3	Hacienda: La pastora	36
4.1.4	Análisis de resultados general	37
5	Conclusiones y Recomendaciones	42
5.1	Conclusiones	42
5.2	Recomendaciones	42
	BIBLIOGRAFÍA	44
	ANEXOS	49
	ANEXO I: Hoja de registro	50
	ANEXO II: Hojas de muestras	51
	ANEXO III: Fotografías	54

ÍNDICE DE TABLAS	Pág.
TABLA N° 1 Comparación entre vacunas	16
TABLA N° 2 Presencia de abortos	28
TABLA N° 3 Sintomatología	28
TABLA N° 4 Presencia de grumos Hacienda: Tres princesas.	29
TABLA N° 5 Presencia de Grumos de vacas por edades Hacienda: Tres princesas.	30
TABLA N°6 Presencia de grumos por razas Hacienda: Tres princesas.	31
TABLA N° 7 Presencia de grumos por tipo de explotación Hacienda: Tres princesas.	32
TABLA N°8 Presencia de grumos Hacienda: La rosita.	33
TABLA N°9 Presencia de grumos por edades Hacienda: La rosita.	34
TABLA N°10 Presencia de grumos por razas Hacienda: La rosita.	35
TABLA N°11 Presencia de grumos Hacienda: La pastora.	36
TABLA N°12 Presencia de grumos.	37
TABLA N°13 Presencia de grumos por edades.	38
TABLA N°14 Presencia de grumos por tipo de explotación.	40

ÍNDICE DE GRÁFICOS	Pág.
GRAFICO N°1: Presencia de grumos Hacienda: Tres princesas	30
GRAFICO N°2 Presencia de grumos por edades Hacienda: Tres princesas.	31
GRAFICO N°3 Presencia de grumos por razas Hacienda: Tres princesas.	32
GRAFICO N°4 Presencia de grumos por tipo de explotación Hacienda: Tres princesas.	33
GRAFICO N°5 Presencia de grumos Hacienda: La rosita.	34
GRAFICO N°6 Presencia de grumos por edades Hacienda: La rosita.	35
GRAFICO N°7 Presencia de grumos Hacienda: La pastora.	36
GRAFICO N°8 Presencia de grumos.	38
GRAFICO N°9 Presencia de grumos por edades.	39
GRAFICO N°10 Presencia de grumos por tipo de explotación	41

TABLA DE FOTOS

Entrevista con los propietarios FOTO N°1	54
Toma de muestras FOTO N°2	55
Muestras recolectadas FOTO N° 3,4,5	56
Manejo de muestras FOTO N° 6,7	57

RESUMEN

La brucelosis, enfermedad infecciosa producida por la bacteria Brucella abortus se contrae cuando un animal sano entra en contacto con animal portadores. Produciendo grandes pérdidas económicas al país que alcanzan 5 millones de dólares. En la provincia de Manabí encontramos con una incidencia del 9.5% afectando principalmente la producción de leche y carne acarreando consigo un problema de salud pública de urgente atención.

El presente trabajo se llevara a cabo en el Recinto Pajales del Cantón Pedernales Provincia de Manabí en los hatos de las haciendas: La Pastora, La Rosita y Tres princesas con 303 cabezas de ganado.

El objetivo general es Determinar la presencia de brucelosis en vacas de 2 a 6 años en las haciendas mencionadas con anterioridad y sus objetivos generales son:

- Analizar el historial de abortos en los bovinos mediante la anamnesis.
- Identificar la existencia de sintomatología presumible con brucelosis.
- Diagnosticar la presencia de la Brucelosis bovina mediante la prueba Card
 Test.

La intención es beneficiar a todos los involucrados; de esta manera los propietarios de las haciendas seleccionadas obtendrán un estudio enmarcado en el método científico donde conocerán la realidad de su hato brindándoles información pertinente sobre las causas y consecuencias que podría tener la brucelosis. La tesis actual se desarrolla dentro del marco del DISEÑO CUALI-CUANTITATIVO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, donde se recolecto muestras de los tratamientos que cumplieron con criterios de inclusión pre-establecidos presentando los datos compilados de manera estadística y así dar a conocer el índice de bovinos portadores de la bacteria; con el afán de realizar la validación de la hipótesis que se ha vertido.

La investigación es de tipo descriptiva debido a que se intenta determinar la presencia de brucelosis en ganado bovino, mediante la presencia o no de formación de grumos luego de aplicado el reactivo en las muestras tomadas.

Palabras claves: Brucelosis, Brucella abortus, La Pastora, La Rosita y Tres Princesas.

ABSTRACT

Brucellosis, infectious disease caused by the bacterium Brucella abortus contracts

when a healthy animal contact carriers animal. Causing great economic losses to

the country reaching \$ 5 million. In the province of Manabi found an incidence of

9.5%, mainly affecting the production of milk and meat bringing with it a public health

emergency care.

This work will take place at Recinto Pajales the Canton Pedernales Province of

Manabi in herds of estates: La Pastora, La Rosita and Tres princesas with 303

cattles.

The overall objective is to determine the presence of brucellosis in cows of 2-6 years

in the estates mentioned above and its overall objectives are:

Analyze the history of sanitation control in cattle by history

Identify existing symptoms presumed to brucellosis.

• Diagnose the presence of bovine brucellosis by testing Test Card.

The intent is to benefit all involved; thus the owners of selected farms framed obtain

a study on the scientific method where they know the reality of your herd by providing

relevant information on the causes and possible consequences of brucellosis. The

present thesis is developed within the framework of DESIGN QUAL-QUANTITATIVE

SCIENTIFIC RESEARCH, where samples of treatments that met criteria pre-

established presenting data compiled statistically inclusion I collected and to make

known the rate of cattle carriers of the bacteria; with the desire to perform validation

of the hypothesis has been poured.

The research is descriptive because it attempts to determine the presence of

brucellosis in cattle, by the presence or absence of clumping after applying the

reagent in the samples taken.

Key words: Brucelosis, Brucella abortus, La Pastora, La Rosita y Tres Princesas.

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes.

Según THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, & INSTITUTE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN ANIMAL BIOLOGICS. (2009) citado por: La secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación de México. Brucelosis es una enfermedad infecciosa que ocurre por el contacto de animales portadores de la bacteria llamada Brucella. Dicha infección es zoonotica y se presenta en humanos que están en contacto con bovinos portadores del agente causal provocando así un impacto en la salud pública, cabe mencionar que la manipulación de los derivados tanto cárnicos como lácteos esto es leche, queso entre otros también trasmiten la enfermedad a los humanos (MedlinePlus, 2014).

Encuestas serológicas realizada por el programa de sanidad animal del Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca hubo una prevalencia de brucelosis para el año 1978 que oscilo en un rango comprendido entre el 1,3% al 10,6% y datos actualizados indican que para 2013 se redujo la prevalencia al 5%. La *Brucella abortus* al estar difundida por todo el Ecuador causa pérdidas que sobrepasan los \$5'436,908 anuales de acuerdo a cifras proporcionadas por Agrocalidad en el 2009.

La provincia de Manabí es un sector donde se desarrollan diversas actividades de producción agropecuaria, con un ingreso de \$ 302,329 dólares equivalentes al 11,5% del producto sectorial bruto de Manabí (MCPEC, 2011). El ganado bovino 2011 tuvo 982.833 cabezas de ganado. Por su parte el cantón Pedernales ubicado al norte de la provincia menciona cuenta con 103.806 bovinos y el número de productores ganaderos es de 2.549 (INEC, 2011).

Según Ramón Párraga técnico del MAGAP (citado de "EL PERIODICO DEL ECUADOR" 2014) en Manabí la incidencia de brucelosis es del 9,5% en trabajo realizado tomando muestras de las ganaderías provenientes de los cantones

Tosagua, Olmedo, Jipijapa, Santa Ana, Chone, Flavio Alfaro, el Carmen, Sucre, Pedernales, Pichincha, Bolívar y Portoviejo ministerio de agricultura, ganadería y pesca.

En el año 2009 se crean dos programas que intentan mejorar la calidad del producto cárnico y lechero de nuestro país por un lado el ministro encargado de la cartera de estado respectiva impulso la potenciación de centros de faenamientos adecuados en el país como en el cantón Balzar, El Tena, Macara, Tulcán, jipijapa, Catamayo, Orellana, Antonio Ante, Chunchi y la Joya de los Tsachilas. Por otro lado a la misma fecha se inició la vacunación contra brucelosis bovina realizada por la federación nacional de ganaderos y la agencia de aseguramiento de la calidad del agua sin embargo las cifras mencionadas con anterioridad sobre la prevalencia de la infección deja entre dicho que aún falta mucho por hacer en lo que concierne a su erradicación (EL CIUDADANO, 2014).

De esta manera la brucelosis bovina produce grandes pérdidas económicas en el país estimadas según Neppas (2013) en 5 millones de dólares debido principalmente a la disminución de la producción de leche, abortos de vacas y otros problemas de salud pública.

Sin embargo es posible erradicar la brucelosis como lo sucedido en el año 1962 en Dinamarca en donde se confirmó su erradicación tanto en animales como en humanos.

1.2 Planteamiento y formulación del problema.

El presente trabajo de tesis se llevara a cabo en el Recinto Pajales del Cantón Pedernales Provincia de Manabí en los hatos de las haciendas: La Pastora, La Rosita y Tres princesas con 303 cabezas, para el desarrollo del tema de investigación se realizó una encuesta a los propietarios y empleados de las haciendas objeto de estudio; donde se determinó que ninguno de los animales había

recibido inmunización contra *Brucella abortus*, además, de acuerdo al testimonio de las personas antes dichas se ha evidenciado referencias de aborto teniendo en lo que va del año un promedio de 4 pérdidas del producto fetal en cada hacienda respectivamente.

De persistir estos síntomas de la situación problema en el futuro, y teniendo en cuenta que las hembras son quienes representan la rentabilidad de una finca, la infección con brucelosis podría producir considerables pérdidas en la producción afectando de manera directa a la economía del propietario y sus empleados además de ser un foco infeccioso que podría instaurar el desencadenamiento de una epidemia infecciosa con la bacteria incrementando su presencia y reduciendo al Ecuador la probabilidad de convertirse en un productor cárnico y lechero de exportación. En párrafos previos hemos hablado de la gran probabilidad de zoonosis de la enfermedad estudiada con riesgo de contagio a las personas encargadas del manejo del ganado bovino generándose así un problema de salud pública.

El tratamiento para un animal llevaría un periodo prolongado de tiempo con un costo muy alto que no garantiza la cura definitiva (Arriaza, 2009); por esta razón mediante el desarrollo de este proyecto de tesis se desea incentivar una cultura de prevención en los ganaderos del sector y poner de manifiesto a las autoridades de los ministerios respectivos, GAD MUNICIPAL Y GAD PARROQUIAL sobre las repercusiones de que la brucelosis tiene, no solo en la población vacuna sino en todo las esferas socioeconómicas; por lo tanto, resulta imperante que los datos aquí expuestos sean fidedignos y tratando de cuidar el margen de error para sí ofrecer información pertinente que promueva una producción bovina de óptima calidad.

Para ello se ha formulado el siguiente problema mismo que guió al desarrollo de los objetivos:

¿Cuál es la presencia de brucelosis bovina en vacas de 2 a 6 años de edad en las haciendas: "La pastora, Las tres princesas y La rosita"; del Reciento Pajales, Cantón Pedernales provincia de Manabí?

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo General.

Determinar la presencia de brucelosis en vacas de 2 a 6 años en las haciendas: "La pastora, Las tres princesas y La rosita"; del Reciento Pajales, Cantón Pedernales provincia de Manabí.

1.3.2 Objetivos específicos.

- 1.- Analizar el historial de abortos en los bovinos mediante la anamnesis.
- 2.- Identificar la existencia de sintomatología presumible con brucelosis.
- 3.- Diagnosticar la presencia de la Brucelosis bovina mediante la prueba Card Test.

1.4 Hipótesis.

En las haciendas: La Pastora, Tres Princesas y La rosita en vacas de 2 a 6 años existe presencia de brucelosis bovina.

1.5 Justificación.

La brucelosis es una patología con repercusión directa a nivel social, económico y salubrista, además de ser un reflejo de lo que nuestra ciencia- la Medicina Veterinaria- está marcando en nuestra sociedad pues son los Veterinarios los encargados de controlar agentes patógenos que puedan disminuir la calidad de vida de la población a la que se deben.

Es por esta razón que la intención del desarrollo de esta tesis es beneficiar a todos los involucrados; de esta manera los propietarios de las haciendas seleccionadas obtendrán un estudio enmarcado en el método científico donde ellos se percaten de la realidad de su hato además de brindarles información pertinente sobre causas y las consecuencias que podría tener la brucelosis. Las medidas de prevención que tome el ganadero producto de un conocimiento pleno ofrecido por la investigación

evitara las zoonosis de quienes se encargan del manejo del ganado tanto dentro de la hacienda, el traslado al camal, y en el proceso de faenamiento por ende los familiares de estas personas.

Teniendo en cuenta que una sola vaca infectada puede trasmitir la infección a otras vacas y un diagnóstico oportuno ayudara a que se tome las medidas necesarias para así cortar la cadena infecciosa. Consecuentemente el control de esta patología incide en un incremento de la producción, en un aseguramiento de la calidad alimentaria y la disminución de problemas de salud pública.

Los datos estadísticos recabados son una pauta trascendental que podrían guiar a profundizar en la temática a instituciones gubernamentales y no gubernamentales que decidan accionar con proyectos o programas que tengan como afán reducir la prevalencia de la bacteria pues si el Ecuador desea convertirse en exportador de productos cárnicos, lácteos y sus derivados necesitara controlar las enfermedades que laceran la calidad del producto.

La Medicina Veterinaria y Zootecnia, quienes la estudian y los profesionales que la practican reciben beneficios, pues el contenido que aquí se presenta en cuanto a material bibliográfico, métodos, técnicas y análisis de laboratorio son de suma relevancia para el desarrollo de sus actividades incluido en esto que a partir de este estudio se podrá profundizar en conocimientos como por ejemplo inmunización, causas y efecto de la brucelosis bovina entre otros.

Es así entonces como queda demostrado la importancia del presente trabajo investigativo.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Brucelosis.

La brucelosis es una infección bacteriana producida por una bacteria del genero *Brucella* Gram negativo (Reyes, *et. al*, 2010). Este microorganismo puede ser eliminado en la leche, el las heces, descargas vaginales, orina, terneros aparentemente sanos de vacas infectadas entre otros conduciendo a que un gran porcentaje de los mamíferos domésticos y salvajes sean altamente susceptibles de contraer la infección, produciéndose una incidencia importante en nuestro país.

La enfermedad es conocida con diversos nombres alrededor del planeta de acuerdo a cada cultura y niveles de conocimiento sobre la misma, Espinoza (2010) han enlistado estos nombres de la siguiente manera:

- Fiebre ondulante
- Fiebre de malta
- Fiebre del mediterráneo
- Aborto contagioso
- Enfermedad de Bang
- Brucelosis melitococcica o fiebre ondulante de malta
- Brucelosis mediterránea
- Fiebre melitensis
- Fiebre de traum
- Fiebre caprina
- Fiebre sudoralis. (Agurto y Fernandez, 2013).

Los agricultores de la zona escogida para el estudio suelen llamarle en su jerga popular como "vacas malparidas".

La enfermedad en los animales y el hombre es producida por diferentes especies de brucellas (Reyes, J. et. al, 2010), tenemos que la *Brucella abortus* infecta

bovinos, *B. melitensis o B. ovis* en pequeños animales rumiantes, *B. suis* en cerdos, *B. canis* en perros y *B. neotomae* en ratas del desierto cabe recalcar que algunas de estas especies son transmitidas a la fauna silvestre y a la fauna marina. Aunque existe un reservorio animal para cada especie pueden ocurrir superposiciones (Llop, *et. al* 2001) citado por: La secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México., esta coexistencia puede ser asintomática o no presentar enfermedad aparente no obstante existe ganado donde se ha desarrollado sintomatología.

El tema a desarrollarse al estar enfocados en ganado bovino se propone detallar todas las características de la *Brucella abortus*.

2.1.1 Brucella abortus, generalidades.

Como ya se ha mencionado la *B. abortus* microorganismo intracelular facultativo con relativa inactividad metabólica, es la responsable de la brucelosis bovina, recientes estudios de hibridación del ADN indican que este agente es una biovariante de la especie *B. melitensis*.

En el ganado bovino los primeros casos identificados de la enfermedad se produjeron a mediados del siglo XVIII. En el año 1864 se pensaba que los abortos ocurrían por "simpatía" pues cuando una vaca perdía el producto fetal las vacas contiguas lo hacían también a los pocos días; no fue hasta el año de 1895 en Dinamarca donde Bang y Stribolt describieron cuadros compatibles a brucelosis certificando que el aborto era su principal signo. Se supuso que el toro distribuía la enfermedad en las hembras, y también la leche de vaca debido a la identificación de micrococos abortus o bacilo de Bang (Padrón, et. al, 2011).

2.1.2 Distribución geográfica.

Las especies de Brucella varían en su distribución geográfica. *B. abortus* se encuentra en todo el mundo, en las regiones ganaderas con excepción de Japón, Canadá, algunos países europeos, Australia, Nueva Zelanda e Israel donde ha sido erradicada (The center for food security and public health, 2013) citado por: La

secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México. En el Ecuador el agente patógeno está distribuido por zonas según Torres y Sandoval (citado de Neppas, 2013) nos dice que en zonas bajas existe el 1 % de prevalencia mientras en zonas altas es el 10 % de esta manera el autor ha dividido el país de acuerdo a la prevalencia en 5 regiones:

- Región 1 comprendida por: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi,
 Tungurahua y Chimborazo con prevalencia de 6-10 %.
- Región 2 comprendida por: Esmeraldas, Manabí, Los Ríos, Santo Domingo de los Tsachilas, Santa Elena, Guayas y El Oro, con prevalencia de 4-10 %.
- Región 3 comprendida por: Bolívar, Azuay, Cañar y Loja con prevalencia de 1-2 %.
- Región 4 comprendida por: Sucumbíos, Napo, Orellana, Pastaza, Morona
 Santiago y Zamora con prevalencia de 1-2 %
- Región 5 comprendida por: Galápagos con prevalencia de 0 %. (Agurto y Fernández, 2013).

2.1.3 Características morfológicas.

El microorganismo no posee capa ni esporas (Meza, 2010). Para que su crecimiento sea óptimo se requiere de una temperatura de 37°C, en un medio con un pH de 6,6 a 7,4. Para que la bacteria sobreviva necesita oxigeno por lo tanto es estrictamente aerobia.

Al microscopio se observa como cocobacilos de 0.5 a 0.7 micras de diámetro y de 0.5 a 1.5 micras de largo, para ello se emplea la tinción de Zielh-Neelsen modificada por Stamp de esta manera las brucellas se tiñen de color rojo mientras que otras bacterias se teñirán de color verde así lo afirma la (Ibrahim, 2010)

Para su cultivo es considerada un organismo trabajoso por sus requerimientos, sin embargo pueden crecer en medios nutritivos mínimos. En TSA (Triptosa soya agar), las cepas lisas producen colonias circulares, convexas con bordes regulares, traslucidos y de coloración ámbar. A la luz reflejadas son brillantes ligeramente opalescentes y de color gris azulado (Espinoza, 2010), por otro lado las cepas

rugosas se manifiestan con colonias de forma muy parecida no obstante su tamaño, color, consistencia y textura son diferentes en su totalidad.

Como todas las bacterias Gram negativas la Brucella abortus presenta membrana citoplasmática, membrana externa y espacio periplastico intermedio. En el periplasma como menciona García Samartino (2010) hay proteínas y un gel glucopeptidico denominado peptidoglicano responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. El citoplasma es rico en ADN, ARN y proteínas citosolicas algunas de ellas de suma importancia para el diagnóstico. (Stein, 2006).

2.1.4 Taxonomía.

La evidencia genética e inmunológica indica que todos los miembros del genero brúcela están estrechamente relacionados (OIE, 2012) aunque resulta evidente la presencia de diferencias significativas entre las principales variantes en cuanto a preferencia para el hospedador, epidemiologia, variaciones genómicas y moleculares, por ello el COMITÉ INTERNACIONAL DE SISTEMÁTICA DE PROCARIOTAS, SUB COMITÉ DE TAXONOMÍA DE Brucella, de manera preponderante en el año 2005 resolvió posicionar las 6 especies de tipo de brucellas con sus bio variedades reconocidas desde antes de 1986 publicadas en las listas autorizadas de nombres de bacterias de 1980. Cabe recalcar como menciona THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, algunos microbiólogos han propuesto que este género sea reclasificado en una especie nueva causando controversia y haciendo que en la actualidad se utilicen ambos sistemas taxonómicos.

Con el propósito de brindar una referencia hacia la puntualización de la taxonomía emplearemos la propuesta en el comité así tenemos:

• Reino: Proteobacteria • Clase: Rodospirilla Orden: Rizobial

• Familia: Brucellaceae

• **Género**: Brucella

• Especie: Brucella abortus

2.1.5 Trasmisión.

Los bovinos infectados eliminan *Brucella* al medio contaminando el ambiente (Ballén y Ormaza, 2009); esto es de suma importancia durante el aborto o los partos infecciosos. Aquí los loquios, la orina y la leche presentan la infección la cual durante los 45 días post parto pueden contagiar a otras bovinos del hato.

El contacto directo con los productos mencionados en el párrafo anterior o con el medio contaminado es la forma de trasmisión más frecuente. Puede también trasmitirse: por vía vaginal, a través de la piel y por inhalación al estar la leche contaminada se convierte en el causal preponderante de zoonosis.

Escobar, (2012) dice que los gérmenes pueden pasar a través de las mucosas pues basta con colocar unas gotas de suspensión de *B. abortus* en la conjuntiva para que se produzca la infección.

Según las condiciones climáticas la capacidad infecciosa del agente patógeno varia en climas templados puede persistir durante 100 días en invierno y 30 días en verano convirtiendo a los animales infectados en la principal fuente de contagio pues contaminan el pasto, el agua y demás alimentos.

Existe una trasmisión congénita provocada por la infección dentro del útero, y si el feto no muere, puede permanecer latente toda su vida en la ternera (Agurto y Fernández, 2013). Esta particularidad es de especial peligrosidad epidemiológicamente hablando, pues es indetectable por pruebas de diagnóstico habituales, hasta su primer parto momento en el cual comienza a desechar el microorganismo. (Agurto y Fernández, 2013).

Agentes externos como moscas, perros, garrapatas, ratas, y otros objetos que han estado en contacto con la bacteria son causantes de una trasmisión horizontal. En toros infectados el semen es donde se localiza la *B. abortus* situación que se debe tener en cuenta en el momento de las inseminaciones artificiales pues no es considerada una enfermedad venérea ya que la acidez de la vagina contribuye a destruir las *Brucellas*.

Resulta importante mencionar que la brucelosis bovina tiene un periodo de incubación aproximado de 15 días aunque en ocasiones puede durar hasta varios meses

2.1.6 Patogenia.

La *Brucella abortus* es patógena su virulencia como lo indica Vega (citado de Vargas, 2012) está relacionada con la capacidad que posee para:

- A) Resistir al efecto bactericida del suero normal.
- B) Adherirse a orgánulos celulares.
- C) Penetrar y multiplicarse en células eucariotas fagociticas y no fagociticas.
- D) Producción de la enzima ureasa, la que modifica el pH de la célula.

Luego de haber penetrado el organismo por cualquier vía el agente es englobado por las células fagocitarias, una vez dentro se multiplican para posteriormente ser transportados por los ganglios linfáticos periféricos al sitio de la entrada propagándose después a otros tejidos linfoides como bazo, ganglios linfáticos mamarios, ganglios iliacos en el becerro allí continúan reproduciéndose hasta su propagación en la sangre; posteriormente, se localiza en los macrófagos hasta llegar al tracto reproductor. *B. abortus* presenta especial afinidad por el endometrio grávido y por la placenta fetal de bovinos, por lo que prolifera extensamente en los trofoblastos del tejido placentario que rodea al feto (Meza, *et. al*, 2010); Henderson, B. (1988, citado de Escobar 2011) agrega a esta predilección ubres, testículos, glándulas sexuales masculinas accesorios, capsulas articulares y bolsas sinoviales. Esta propensión por los tejidos mencionados se atribuye a la presencia de i – eritritol, fuente de energía para el crecimiento de la *Brucella*

2.1.7 Signos y síntomas.

Auz y Zambrano, (2009) indican que un brote de brucelosis casi siempre involucran una gran cantidad de animales y no presentan signos patognomónicos.

En el útero grávido al producirse la infección, las lesiones se inician en la pared del órgano dando lugar a endometritis ulcerosa grave de los espacios situados entre los cotiledones placentarios, conocida como placentitis, después de ello se presenta destrucción subsecuente de las vellosidades; todo esto aisla al feto privándolo de su nutrición, luego de que esto avanza ocurre la principal manifestación clínica aguda es decir el aborto sobre todo durante el último tercio de la gestación, o el nacimiento de animales prematuros poco viables (Ficht, 2003, citado de Meza, *et. al,* 2010). Los cuales de nacer vivos mueren poco tiempo después del parto.

En el feto se incluyen lesiones como congestión pulmonar, acompañadas de hemorragias en el epicardio y capsula esplénica. En el toro cuando la enfermedad se manifiesta se pueden presentar uno o ambos testículos inflamados, disminución de la libido e infertilidad en ocasiones podemos encontrar atrofia testicular.

Otras manifestaciones clínicas son:

- Fiebre.
- Metritis.
- Mastitis.
- Orquitis.
- Trastornos locomotores.

Sin embargo estos síntomas y signos son compatibles con otros padecimientos por lo tanto el diagnóstico clínico debe ser acompañado del diagnóstico de laboratorio.

2.1.8 Respuesta inmune contra Brucella abortus.

2.1.8.1 Inmunidad innata.

El rol de esta respuesta inmune en estadios tempranos de la infección es disminuir la cantidad de bacterias y de esta manera promover un ambiente favorable para desarrollar la respuesta de linfocitos TH1 en el hospedador; y así complementar su trabajo junto con los neutrófilos y macrófagos.

García Samartino (2010) menciona que diversos autores que tanto la fagocitosis como el estallido respiratorio en macrófagos son dependientes de la opsonización de las bacterias por Acs y complemento así como la activación celular para el

interferón gamma (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) que puedan producir otras células.

2.1.8.2 Inmunidad adaptativa.

En esta respuesta de involucra tres grandes mecanismos:

- El IFN-γ producido por células T CD4+, CD8+ y γδ activa las funciones bacterianas del macrófago y así inhibe la supervivencia intracelular de la bacteria.
- 2) El macrófago infectado puede ser destruido por la citotoxicidad de los linfocitos T CD8+ y γδ puede destruir al macrófago infectado.
- 3) Los isotopos de Acs de tipo T "helper 1" (Th1) como IgG2a e IgG3 opsonizan al patógeno y facilitan la fagocitosis.

2.1.9 Factores de riesgo.

En el ganado vacuno los animales más susceptibles son los individuos más sexualmente activos; los jóvenes suelen ser más resistentes, pero pueden presentar infecciones latentes hasta que alcanzan la madurez sexual (Instituto Colombiano Agropecuario Subgerencia de Protección Animal Dirección Técnica de Sanidad Anima, 2010).

Constituyen factores de riesgo la gestación debido a que los abortos la principal fuente de contagios por lo general los abortos o las pérdidas del feto se producen una sola vez gracias a la inmunidad adquirida durante la infección. No obstante puede existir un segundo o tercer aborto.

Hay que tener presente que aunque un animal que ha sido diagnosticado con brucelosis no presenta sintomatología o el ganadero crea que esta curada aun elimina la bacteria contaminando el ambiente.

Son factores de riesgo entre otro los mencionados a continuación (Paredes, 2012)

- Incremento del tamaño de las explotaciones.
- Incorporación de animales sin el control apropiado.

- Uso común de pastos.
- Manejo inadecuado de los partos.
- Ausencia de vacunación.

2.1.10 Control.

Todos los esfuerzos en cuestión al control están centrados en dos puntos: Detección y prevención; esto se debe a que de acuerdo a MERCK SHARP & DOHME CORP. (2013) ningún tratamiento es viable. Cabe hacer énfasis en que para lograr la erradicación de la *B. abortus* es imperante detectar los focos de infección y realizar pruebas de diagnóstico oportunas cada cierto tiempo.

Por lo general la enfermedad entra al ganado cuando se introduce un nuevo bovino al ato, es por ellos que se debe tener en claro la procedencia del animal, cerciorarse si existe historial de abortos y si está debidamente vacunado.

La vacunación es la herramienta más eficaz en cuanto a la prevención de la enfermedad, pues de esta manera se prepara al sistema inmune para la infección, las principales sepas son B. Abortus strain 19 ó RB51, sin embargo sin un control adecuado del entorno que posibilite una severa exposición al agente patógeno, podría contraerse la bacteria (Fernández, 2011)

2.1.10.1 Inmunización contra Brucelosis.

Preparadas en su mayoría con los mismos gérmenes que producen la enfermedad pero muertos o disminuidos en su virulencia los inmunizadores son capaces de conseguir la respuesta orgánica con la producción de anticuerpos específicos sin embargo estos no tiene una duración indefinida por lo que es necesario una dosis de refuerzo los cuales se administraran de acuerdo a la cepa que se esté empleando en el animal con esto se garantizara la permanencia de niveles altos y útiles de anticuerpos, además, lo menciona Espinoza (2011) es importante que el ganadero establezca un esquema de vacunación que por ningún motivo podrá ser alterado, cambiado u omitido.

2.1.10.1.1 Cepa 19.

Utilizada en varios países en sus programas de erradicación de brucelosis la cepa 19 es un cultivo vivo de la bacteria, conteniendo entre 10-60 x 19⁹ CFU, y se presenta al mercado en forma liofilizada

Es una cepa lisa gran negativa que posee integro su lipopoliosacarido incluyendo la cadena "o" responsable de inducir los anticuerpos que reaccionan loa antígenos al anticuerpo.

La revacunación con dosis reducidas con cepa 19, antes del primer servicio post parto mostro ser benéfica de la enfermedad (Peniche, *et., al.* 2009).

Se recomienda aplicar en terneras de 3 a 6 meses de edad vía sub cutánea en la Tabla del cuello dosis de 2ml. Es importante tener en cuenta que no se debe vacunar machos pues existen reportes científicos que podría provocar orquitis.

2.1.10.1.2 Cepa RB51.

Fue desarrollada por el investigador chileno Cerbardt Schurig en la universidad tecnológica de Virginia en EEUU (Espinoza, 2010)

La vacuna RB51 es una cepa mutante derivada de la cepa virulenta estándar de brúcela abortus (s2308) la cual carece de la mayoría de LPS de la cadena "o", que se encuentra tanto en la cepa vacunal anterior y también en la cepa de campo brúcela abortus virulenta (Peniche, *et., al.* 2009)

A continuación presentamos un cuadro comparativo entre las vacunas

TABLA N° 1
COMPARACIÓN ENTRE LAS VACUNAS

_	CEPA 19	CEPA RB 51
Protección Diagnóstico	 Protege contra la brucelosis del bovino Produce falsos positivos porque es detectada mediante los diagnósticos tradicionales en el suero de los animales y no se puede diferenciar de la enfermedad. (confunde el diagnóstico) 	Protege contra la brucelosis del bovino. No produce falsos positivos porque los diagnósticos tradicionales no la detectan en el suero de los animales vacunados. (No confunden el diagnóstico)
Edad de Vacunación	Debido a que es detectada en el suero se pueden vacunar solamente las terneras hasta los 10 meses y realizar diagnóstico a partir de los 18 meses de edad.	Se puede vacunar a cualquier edad debido a que no es detectada en el suero (no confunde el diagnóstico) pero con el fin de prevenir el contagio temprano, se recomienda vacunar las terneras entre 4 y 10 meses (La edad ideal es cercano a los 5 meses)
	En el caso de rebaños infectados donde es necesario vacunar animales sobre edad, se usa una dosis muy pequeña, no se hacen diagnósticos por un período de tiempo y sus resultados se deben interpretar cuidadosamente para no eliminar animales sanos.	En predios infectados o de mucho riesgo se usa la vacunación de rebaño completo, incluyendo los animales adultos, y se puede realizar diagnóstico rápidamente sin riesgo de eliminar animales sanos.
Abortos	•cuando se aplica dosis completa causa abortos.	Es raro que la aplicación de dosis completa produzca aborto, pero como medida de precaución en las hembras adultas se aplica 1/10 de la dosis.
Riesgo En Humano	La aplicación accidental en el ser humano genera enfermedad.	Hasta la fecha en Estados Unidos pese a que se han inoculado accidentalmente sobre 50 personas ninguna ha desarrollado síntomas.

Fuente: Peniche et al (2009)

Agrocalidad agencia Ecuatoriana de aseguramiento de la calidad del agro está desarrollando campañas que tienen como propósito prevenir y controlar la enfermedad en nuestro ganado brindando información al ganadero; en la folletería entregada menciona que es importante la vacunación de terneras de 3 a 8 meses con vacuna CEPA 19, medidas de manejo sanitario en la finca y diagnóstico de animales enfermos mediante exámenes de laboratorio en leche y suero sanguíneo en forma periódica. La misma cartera gubernamental propone un programa de control en la cual incluye la certificación de predios libres ofreciendo diagnósticos cada 6 meses y otorgando certificados a los ganaderos (El UNIVERSO, 2009) citado por Agronegocios.com.

2.1.10.1.3 Ventajas de un predio libre de brucelosis bovina.

Partiendo de la premisa de calidad de vida del ganadero indudablemente tener animales sanos como ya se ha mencionado tiene sus ventajas así lo menciona Agrocalidad (2014) y enumera cada una de ellas:

- Mejora la comercialización de animales, leche y carne.
- Aumenta la producción.
- Alcanza la bonificación establecida en el precio del litro de leche.
- Incrementa el precio en la venta de productos.
- Disminuye el riesgo de contagio de los trabajadores y al grupo familiar.
- Reduce los abortos y los costos en tratamientos veterinarios. (Citado por Agronegocios.com).

2.1.11 Diagnostico

Como ya se ha planteado, el diagnóstico clínico no posea utilidad, la detección del agente patógeno en estudio, sin embargo existen diversos métodos de laboratorio, en este apartado describiremos los más preponderantes, enfocándonos en la prueba empleada en este trabajo investigativo, esto es CARD TEST. (Held, 2009)

2.1.11.1 Diagnóstico serológico

Por su bajo coste y rapidez de realización, el diagnostico serológico, es el método más oportuno pues se han desarrollado técnicas de laboratorio de una suficiente especificidad en cuya aplicación no se necesita emplear equipos sofisticados.

Con este tipo de diagnóstico lo que se detecta son anticuerpos (IgM, IgG1 e IgG2) y por este tipo de pruebas no se pueden reconocer las clases de anticuerpos pero si el predominio de alguno de estos (Pozo, 2014). Están basados en el principio de aglutinación de los anticuerpos con antígenos a pH bajo y se dividen en dos tipos de pruebas: las pruebas primarias o de screening y las pruebas secundarias o de confirmación. (Paredes, 2012).

2.1.11.1.1 Pruebas Primarias o de Screening.

Se utiliza como pruebas primarias:

- Rosa de bengala
- Anillo de leche

2.1.11.1.1 Rosa de bengala.

La prueba rosa de bengala o card test es una prueba de aglutinación rápida que se realiza sobre una placa o en micro placa, esto se produce por una unión secundaria usándose como antígeno una célula muerta de B. abortus S99 o S1119-3. Las bacterias se encuentran suspendidas en un tampón lactato a pH 3,6 y teñidas con rosa de Bengala lo que permite una mejor visualización de la reacción de aglutinación (Franco, et., al. 2009).

Los test de aglutinación pueden presentar reacciones inespecíficas debido a las IgM. En el caso del Card Test se disminuye este efecto mediante la acidificación del antígeno por lo que las reacciones que se producen son debidas básicamente a las IgG1.

2.1.11.1.1.2 Anillo de leche.

Esta es una variante en la prueba de aglutinación, se hacer con leche. La prueba es muy sencilla pero es muy difícil preparar el antígeno adecuado (Espinoza, 2010).

2.2.11.1.2 Pruebas secundarias o de confirmatorias

Luego de tomar las pruebas screening, que como menciona Franco (2009) con respecto a la Prueba de Card Test esta puede dar resultados falsos negativos debido a fenómenos de prozona. También se han observado reacciones cruzadas con anticuerpos procedentes de la vacunación de los animales con B19.

Para ello los resultados positivos deben ser confirmados por otras pruebas más especializadas.

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Diseño metodológico.

El trabajo de investigación actual se desarrolló dentro del marco del DISEÑO CUALI-CUANTITATIVO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, donde se recolectara muestras de tratamientos pertenecientes al universo de estudio pre determinados en los apartados anteriores, se propone realizar análisis de laboratorio mediante el método **CARD TEST**, presentando los datos compilados de manera estadística y así dar a conocer el índice de bovinos portadores de la bacteria; con el afán de realizar la validación de la hipótesis que se ha vertido.

3.2 Tipo de investigación.

La investigación será de tipo descriptiva debido a que se intenta determinar la presencia de brucelosis en ganado bovino, mediante la presencia o no de formación de grumos luego de aplicado el reactivo en las muestras tomadas; es además transversal pues la toma de muestra se realizara en un tiempo determinado.

3.3 Procedimiento De Campo

3.3.1 Ubicación del ensayo

El recinto pajales debe esa denominación a que a la llegada de sus primeros habitantes era una zona donde existían, como su nombre mismo lo dice; extensas áreas de vegetación conocida por el pueblo montubio como paja, en el residen un aproximado de 50 familias esto es un promedio de 250 habitantes (GAD Municipal Pedernales 2014).

Las coordenadas que apuntan al centro de pajales son 621939E y 10'005967N, empero resulta importante mencionar que en la actualidad el recinto Pajales no tiene

una delimitación exacta, encontrándose en disputa el GAD Municipal de Pedernales y el GAD Parroquial de Atahualpa por la disposición territorial de sus límites como se lo describe en el mapa otorgado por el departamento de planificación y desarrollo del cabildo de Pedernales.

El eje productivo va desde Manga de paja, pasa por el recinto pajales continua hacia el pueblito Cañaveral del naranjo y La pimienta en un eje de 26 km desde la vía pedernales al Carmen como punto de referencia podemos situar la reserva Mache Chindul que colinda al lado oeste.

Pajales es una zona considerada agrícola, ganadera y forestal, contando de acuerdo con Agrocalidad (2014) con aproximadamente 21000 cabezas de ganado bovino.

3.3.2 Características Climáticas.

Por estar ubicado en la costa del Ecuador, el clima de Pedernales es seco, pero la influencia de las elevaciones cercanas al mar, los vientos marinos y las montañas han permitido que sea semihúmedo en las partes bajas y húmedas en las montañas. En la mayor parte del territorio la estación lluviosa se prolonga de diciembre a junio, y la seca desde julio a noviembre. Sin embargo, existen lugares donde llueve la mayor parte del año.

La temperatura promedio fluctúa entre 21 y 24 grados centígrados, con una precipitación pluviométrica de entre 2.000 y 4.000 milímetros por año. (GAD-Municipal Cantón Pedernales)

3.3.3 Materiales y métodos

3.3.3.1 Materiales.

3.3.3.1.1 Materiales de campo:

3.3.3.1.1.1 Biológicos:

Ganado bovino de las haciendas: "La pastora, Las tres princesas, La rosita" que cumplan los criterios de inclusión.

3.3.3.1.1.2-. Físicos:

- Jeringuillas desechables
- Agujas hipodérmicas # 21 x 1/2
- Guantes de examinación
- Mandil
- Botas de caucho
- Cámara fotográfica
- Mochila
- Esferográfico
- Cabos
- Marcadores de tinta permanente
- Etiquetas
- Hojas de registro
- Hielera
- Gel refrigerante
- Algodón

3.3.3.1.1.3.- Químicos:

Alcohol etílico

3.3.3.1.2.- Materiales de laboratorio:

3.3.3.1.2.1. Biológicos:

Suero sanguíneo 1 cm³

3.3.3.1.2.2.- Físicos:

- Centrifuga
- Aglutinoscopio
- Palillos
- Algodón
- Goteros
- Guantes de examinación
- Cámara de fotos
- Hojas de campo
- Hojas de laboratorio

3.3.3.1.2.3.- Químicos:

• Reactivo: Rosa de Bengala

3.3.3.1.3.- Materiales de escritorio:

- Computadora
- Impresora
- Cámara de fotos
- Memory flash
- Esferográficos
- Papel bond

3.3.4.- Tratamiento en estudio.

Para la selección de los tratamientos se realizaron entrevistas con los propietarios de las haciendas "La pastora, Las tres princesas, La rosita" en los cuales se determinó que el mayor índice de vacas que ha tenido entre 1 hasta 4 partos están en edad comprendidas de 2 a 6 años además se logró identificar que no han recibido la inmunización correspondiente contra brucelosis en los hatos referidos. Por esta razón el objeto de estudio a más de lo mencionado cuenta con los siguientes criterios de inclusión:

- Vacas con edades comprendidas entre 2 a 6 años.
- Que no hayan recibido inmunización contra brucelosis.
- Antecedentes de aborto.

Las vacas ubicadas dentro de los parámetros mencionados correspondían a:

- Hcda. La Rosita con 67 animales
- Hcda. Tres Princesas con 200 animales
- Hcda. La Pastora con 36

Por lo tanto teniendo en cuenta la población delimitada en el tema y los objetivos cabe resaltar que el número de la muestra es igual al total de la población de vacas que cumplen con los criterios de inclusión.

3.3.5 Manejo del experimento

3.3.5.1 Método de laboratorio

3.3.5.1.1 Prueba Card test o rosa de bengala para el diagnóstico de brucelosis.

Como ya se mencione en el capítulo correspondiente a marco teórico la prueba card test o rosa de bengala es un método de screaning para realizar un tamiz de las posibles vacas infectadas y así enviar al laboratorio las muestras que has salido positivas de esta manera abaratar costos y tiempo en un diagnóstico oportuno. Las muestras fueron procesadas en las instalaciones de Laboratorios LLaguno; donde luego de realizar el procedimiento se hicieron los registros para su análisis estadístico.

3.3.5.1.2 Procedimiento en estudio.

Previo a la realización de la prueba se extrajo los sueros de los tratamientos que cumplían con los criterios de inclusión en las tres haciendas seleccionadas; para continuar con el procedimiento debido explicado en los párrafos subsiguientes:

- Posterior a la toma de la muestra se la centrifuga para separar los elementos figurados del suero sanguíneo durante 3 min a 20 rpm.
- Depositamos una gota de suero sanguíneo o plasma problema sobre el aglutinoscopio.
- Cerca de la gota de suero se vierte 0.03 ml del antígeno rosa de bengala.
- Con el extremo de un palillo montadientes se mezcla completamente el antígeno con el suero problema.
- Una vez hecha la mezcla se realiza un movimiento rotativo en 8 durante 4 min.
- Pasado el tiempo descrito se coloca el aglutinoscopio a luz directa para de esta manera observar la presencia o no de aglutinaciones.
- Al tratarse de una prueba cualitativa los resultados se presentan como:

Negativo: no hay presencia de grumos de aglutinación

o Positivo: presencia de cualquier grado de grumos de aglutinación.

3.3.5.1.2.1 Instrucciones.

Manejo del antígeno

El antígeno debe permanecer refrigerado a una temperatura de 4 a 8 °C

teniendo presente la importancia de evitar la congelación pues al suceder

esto la muestra debe ser desechada. La evaporación o la introducción de

modifica elementos extraños su concentración reduciendo

considerablemente su eficacia en el diagnostico por lo tanto se recomienda

mantener tapado los frascos que contengan el antígeno.

Debemos tener en cuenta que tanto como sueros como antígenos deben ser

utilizados a temperatura ambiente.

Aglutinoscopio

Herramienta fabricada de madera color café la cual posee las siguientes

dimensiones:

Ancho: 35 cm

Alto: 15 cm

Largo 45 cm

Con el propósito de evitar que las pruebas se evaporen conviene colocar una

tapa de vidrio.

Placa de vidrio

La placa de vidrio está divida en cuadriculas de 4x4 cm la cual debe ser

precisa pues ello permitirá el manejo adecuado de cada disolución.

26

Goteros

El gotero empleado estaba calibrado para liberar 0.03 ml muy importante para mantener la relación antígeno anticuerpo del suero problema.

• Suero problema

Se obtiene centrifugando las muestras por 3 min a 20 rpm posee un color amarillento.

• Hoja de campo

Documento donde se registra información de los bovino.

• Hoja de laboratorio

Documento dónde se expresa los resultados obtenidos en el examen.

IV RESULTADOS

En este capítulo detallaremos los datos obtenidos con los métodos empleados además de las frecuencias relativas derivadas de las muestras. Aquí describimos la presencia de brucelosis en las tres fincas seleccionadas explicando con criterio fundamentado en la teoría que concierne a la medicina veterinaria cada uno de los cuadros estadísticos obtenidos tanto de las anamnesis como del Card Test.

La hoja de registro, que empleo demostró la presencia de abortos, esto sirvió para identificar vacas con sintomatología concordante con brucelosis, esto lo detallamos en las siguientes Tablas.

Tabla 2
Presencia de abortos

Hacienda	Abortos
La Rosita	Si
La Pastora	Si
Tres Princesas	Si

Fuente: El autor

Tabla 3
Sintomatología

Sintomatología	La Rosita	La Pastora	Tres Princesas
Abortos	Si	Si	Si
Aplicación de Vacuna contra brucelosis.	NO	NO	NO
Otras enfermedades infecciosas (cuadros diarreicos)	SI	SI	SI

Para poder cuantificar el muestreo se empleó una hoja de registro (anexo1) donde se coloca la presencia de grumos en suero sanguíneo de esta forma se hizo más factible el procesamiento, la elaboración de gráficos estadísticos lo que proporciono una mayor comprensión de los resultados.

4.1 Análisis por haciendas.

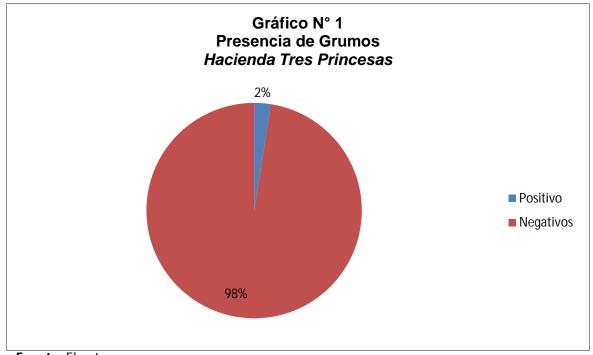
4.1.1 Hacienda: Tres princesas.

En la hacienda tres princesas se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla N° 4, grafico N° 1): se encontró 5 animales positivos por aglutinación mediante la reacción producida por el antígeno de rosa de bengala o prueba de card test que equivalen al 2 % de esa población y 195 vacas negativas a la reacción que equivalen al 98 % de un total de 200 vacas

Tabla N° 4

Presencia de Grumos - Hacienda Tres Princesas

Presencia de grumos	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	5	2 %
Negativos	195	98 %
Total	200	



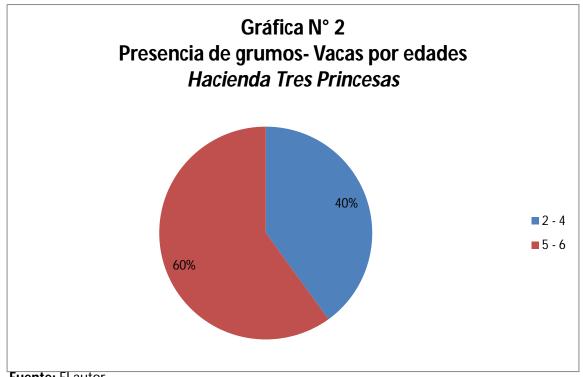
La clasificación por edades demostró una reacción 60 % en vacan de 5 a 6 años esto es una frecuencia de 3, por otro lado los animales de la periodización comprendida entre 2 a 4 años presento el 40 % de la muestra demostrando así que la bacteria infecto a vacas de mayor edad, debido posiblemente que al tener avanzada edad tienen un sistema inmune debilitado por causas como el stress y otros empero en ambos casos el número bovinos es muy cercano (Tabla N°5 y Gráfico N° 2).

Tabla N° 5

Presencia de grumos- Vacas por edades

Hacienda Tres Princesas

Edades de vacas con presencia de grumos	Frecuencia	Porcentaje
2 – 4	2	40 %
5 – 6	3	60 %



El 2 % del total de vacas perteneciente a la hacienda: Tres Princesas presentaron reacción al antígeno tal cantidad equivale a 4 vacas de la raza Brahman; contraponiéndose a esto se detectó la presencia en este hato de una hembra Mestiza positivo a la enfermedad. La entrevista con el ganadero propietario menciono que además de que ninguna de las vacas esta vacunada no cuenta con un programa de control sanitario para las vacas de producción cárnica lo que se confirma con los datos estadísticos presentados en la Tabla Nº 6 Gráfico Nº 3 donde resalta donde el 80 % de las vacas infectadas corresponden con este tipo de explotación.

Tabla N° 6 Presencia de Grumos por raza Tres Princesas

Raza	Presencia de grumos	Total de animales en hato	Porcentaje
Brahman	4	60	2 %
Mestiza	1	110	0.5 %
Brown Swiss	0	30	
Total	5	200	2.5 %

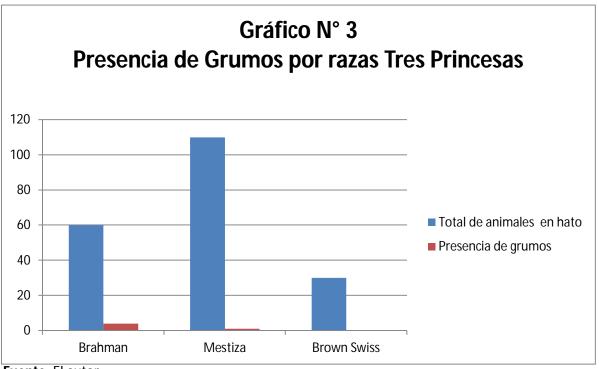
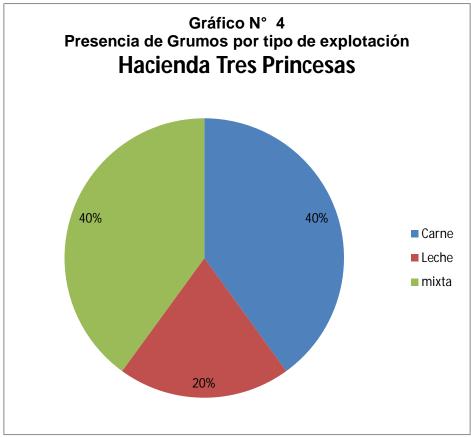


Tabla N° 7

Presencia de Grumos por tipo de explotación

Hacienda Tres Princesas

Tipo de explotación	Presencia de grumos	Porcentaje
Carne	2	40 %
Leche	1	20 %
mixta	2	40 %
Total	5	



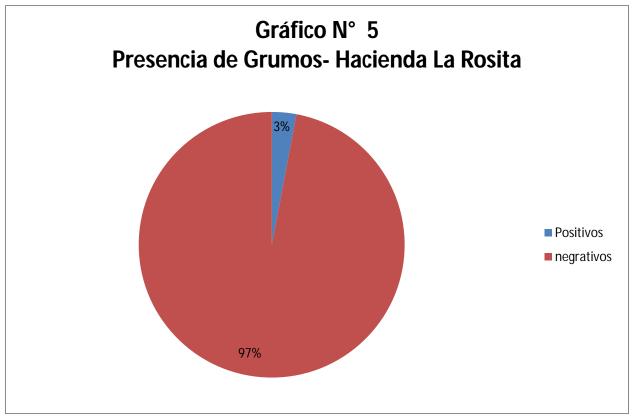
4.1.2 Hacienda: La rosita.

En la Hcda. La Rosita se encontró 2 vacas positivas mediante el método de Card Test que equivale al 3 % de la población en esa hacienda de la población en dicha propiedad en un total de 67 animales como lo podemos apreciar en la Tabla y grafico subsiguiente.

Tabla N° 8

Presencia de Grumos- Hacienda La Rosita

Presencia de	Frecuencia	Porcentaje
grumos		
Positivos	2	3 %
negativos	65	97 %
total	67	



Al clasificarlas por edades de 2 a 4 años se encontró una vaca positiva mediante el método de card test que equivale al 50 % de esa población y una vaca negativa que equivale al otro 50 % (Tabla N° 9 y Gráfico N° 6). Sucede lo mismo en cuanto a raza teniendo una Brahman y una Mestiza con presencia de grumos en sus muestras. (Tabla N°8)

Tabla N° 9

Presencia de Grumos por edades

Hacienda La Rosita

Edades	Frecuencia	Porcentaje
2-4	1	50 %
5-6	1	50 %

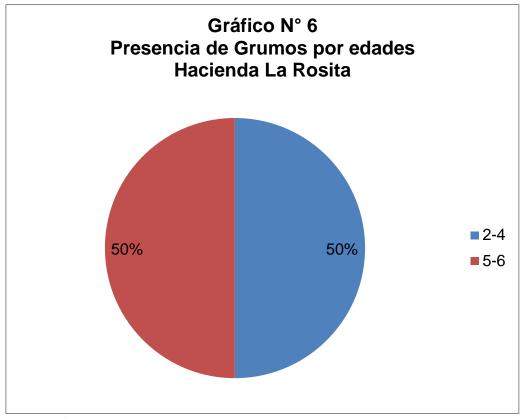


Tabla N° 10
Presencia de Grumos por Razas
Hacienda La Rosita

Razas	Total de animales en hato	Presencia de grumos
Brahman:	24	1
Mestiza:	25	1
Brown Swiss:	18	0
Total	67	2

4.1.3 Hacienda la pastora

Del hato total de 36 cabezas de ganado resulto una sola vaca reactiva al antígeno rosa de bengala de raza mestiza de 2 años de edad cuyo tipo de explotación es de doble propósito. Se debe dejar sentado que a pesar de que este ganado existía en la periodización empleada para este trabajo investigativo una sola vaca esta puede contaminar el área circundante y los animales contiguos a ella.

Los datos mencionados los presentamos en la Tabla N° 11 y Gráfico N° 7

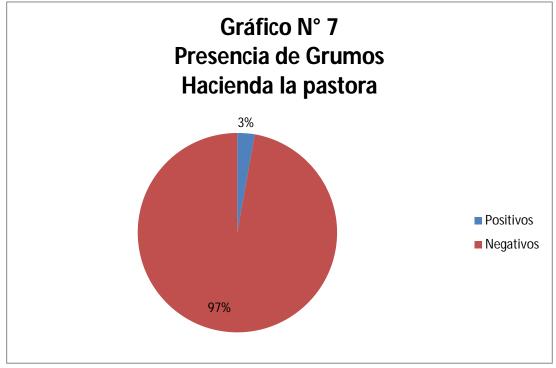
Tabla N° 11

Presencia de Grumos

Hacienda la pastora

Presencia de grumos	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	1	3 %
Negativos	35	97 %
Total	36	

Fuente: El autor



4.1.4 Análisis de resultados general.

Como se delimito en el tema y en el objetivo general la población seleccionada fueron 303 vacas que cumplían con los criterios de inclusión antes mencionados. Por cada finca se obtuvo una muestra del siguiente tamaño:

- Tres princesas 200 vacas.
- La rosita 67.
- La pastora 36.

De acuerdo a la anamnesis de historial de abortos se constató que en las tres haciendas existe historial de abortos, no existe vacunación contra brucelosis (ver anexo 1).

Como lo demuestra la Tabla N°12 y el Grafico N°8 se encontró de manera general, entre las tres haciendas, ocho animales positivos por reacción con el antígeno Rosa de Bengala, lo que equivale al tres por ciento de la población total, con un noventaisiete por ciento de animales no reactivos, esto es 295.

Tabla N° 12
Presencia de grumos

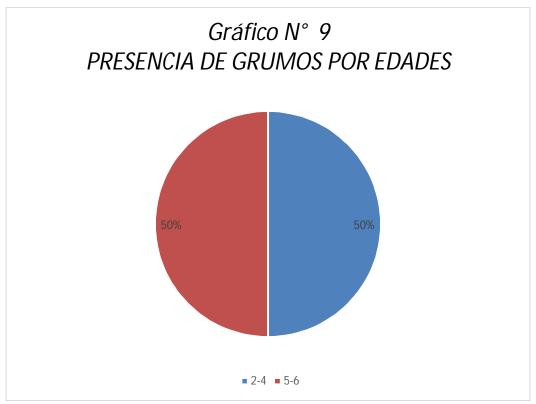
Presencia de grumos	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	8	3 %
Negativos	295	97 %
Total	303	



El análisis por edades, muy importante para obtener conclusiones determinantes, nos permitió comprobar que existe simetría de frecuencias, así lo señala la Tabla N° 13.

Tabla N° 13
PRESENCIA DE GRUMOS POR EDADES

Edades	Frecuencia	Porcentaje
2-4	4	50 %
5-6	4	50 %



Esto demuestra que la bacteria *B. abortus*, causante de *Brucelosis*, en el ganado bovino, no distingue edad. La bacteria infecta al feto, si el aborto no sucede el producto nacer infectado es una foco de la infección, siendo además susceptibles a microorganismos oportunistas por el sistema inmunológico deprimido, sin embargo si logran sobrevivir hasta la edad reproductiva, estos desarrollan la enfermedad.

Por tipo de explotación se obtuvieron los siguientes resultados: los animales de características doble propósito, presentados en la Tabla tres y grafica tres con "MIXTAS" fueron las vacan con mayor frecuencia de positivos, con un 63 %, tal vez debido a que por un lado, son los bovinos de mayor cantidad en las haciendas. No obstante cabe recalcar que a estos animales, se los cría de manera extensiva lo cual facilita el contagio al estar propensos al mantener contacto con focos de infección. En animales de aptitud carnicera, se encontró, 25 % de positivos, esto puede deberse a que son criadas de la misma manera que las vacas doble propósito, al pertenecer a la Raza BRAHMÁN, cuya temperamento ansioso dificulta al ganadero, realizar cuidados preventivo, como vacunación, curaciones, entre otros.

Las vacas lecheras, por su parte, presentaron un porcentaje menor en comparación los otros animales, posiblemente debido a que son las vacan que representan, la liquidez, diaria del ganadero llevando mejores cuidados, mejor vigilancia, al momento de aparecer síntomas de enfermedad alguna, lo mismo al momento de adquirirlas el ganadero es más riguroso, pues en los centros de acopio donde receptan la leche aplican rigurosos métodos de control, para obtener un mejor producto, en este criterio del ganadero existe una disparidad con respeto al control en las vacan cárnicas, pues no se preocupa si esta puede tener enfermedad, la adquiere directamente por el peso, por la edad y por el precio, y como su ganancia no se ve a corto plazo no efectúa un control adecuado de este tipo de ganado.

Tabla N° 14

Presencia de grumos por tipo de explotación

Tipo de explotación	Frecuencia	Porcentaje
Carne	2	25 %
Leche	1	12 %
Mixta	5	63 %



CONCUCIONES Y RECONMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

Con respecto al objetivo general, y como se ha demostrado con el análisis de resultados se logró determinar la presencia de brucelosis en vacas de 2 a 6 años en la población seleccionada para desarrollar el presente trabajo investigativo, con un 3 % de vacas positivas al antígeno.

En respuesta al objetivo uno se pudo identificar el profundo desconocimiento que tiene el ganadero en torno a la brucelosis su control y consecuencias pues el ganadero no toma en cuenta la procedencia de los animales, le resta importancia a la vacunación y a un control de sanidad adecuado.

La única sintomatología conocida para el productor compatible a brucelosis es indudablemente el aborto, este hecho se constató en la entrevista realizada a los vaqueros y propietarios de las haciendas.

En el procedimiento de laboratorio permitió al investigador diagnosticar cinco vacas infectadas con *B. abortus* (ver anexo 2).

5.2 Recomendaciones.

A manera de recomendaciones sugiere que:

- Profundizar en la temática con el objetivo de determinar el método más efectivo y exequible para tratar la Brucelosis.
- Realizar promoción de cuidado óptimo del ganado en todas las poblaciones rurales tanto por entidades gubernamentales facultades y escuelas de veterinaria y zootecnia en el país que tengan como propósito concienciar a los ganaderos sobre las repercusiones de la brucelosis; para de esta manera, ellos tomen la iniciativa de cerciorarse la procedencia del animal que adquieren, vacunar como lo indica la literatura respectiva y optimizar el entorno donde el ganado permanece
- Aplicar controles rigurosos y exámenes de mayor sensibilidad por parte de las entidades gubernamentales para así disminuir la prevalencia.

 Si bien es cierto las cámaras de estado que trabajan con producción agropecuaria realizan programas exhaustivos para controlar otros agentes patógenos como la aftosa con el propósito de convertirnos en un país exportadores de productos cárnicos es imperante también solucionar el problema de la brucelosis pues esto también como ya se explicó en capítulos anteriores genera cuantiosas pérdidas, forma parte de las enfermedades infecciosas que deben ser erradicadas.

BIBLIOGRAFÍA

- AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DEL AGRO. (2009). Programa Nacional De Control De Brucelosis Bovina. Ministerio De Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Dirección de sanidad y programas específicos. Quito.
- ______. (2014).Sanidad Animal. Quito.
- AGRONEGOCIOS ECUADOR. (2014). PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE BRUCELOSIS BOVINA. Recuperado de: http://agronegociosecuador.ning.com/page/programa-nacional-de-control
- AGURTO & FERNANDEZ. (2013). PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA PARROQUIA INGAPIRCA, CANTÓN CAÑAR, PROVINCIA DE CAÑAR. UNIVERSIDAD DE CUENCA.
- ARRIAZA MENESES, S. (2009). Utilización de la prueba del anillo en leche como método de monitoreo de brucelosis bovina a nivel predial en lecherías del sector Sag San Fernando.(Tesis de pregrado) Universidad De Concepción, Facultad De Ciencias Veterinarias, Departamento de Patología y Medicina Preventiva. Chillan, Chile.
- AUZ GÓMEZ, M., & ZAMBRANO ZAMBRANO, F. (2009). Análisis integral de las actividades Agropecuarias de la zona norte de Manabí y alternativa de equipamiento arquitectónico civil. (Tesis de pregrado). Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Facultad de Arquitectura.
- BALLÉN LOOR, D.E., & ORMAZA DONOSO, J. A. (2009). Determinación de brucelosis mediante pruebas en placa y contramuestra con elisa indirecto en el ganado bovino del cantón Bolívar en el invierno 2009. (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López, Carrera Pecuaria. Calceta.
- DIARIO EL UNIVERSO. (2009). Se inicia la vacunación contra brucelosis bovina. Ecuador – Noticias, El Universo. Recuperado de: http://www.eluniverso.com/2009/09/19/1/1416/inicia-vacunacion-contra-brucelosis-bovina.html
- EL CIUDADANO. (2014). Gobierno Nacional ayuda en repotenciación del Centro de Faenamiento de Balzar. Recuperado de: http://www.elciudadano.gob.ec/gobierno-nacional-ayuda-en-repotenciacion-del-centro-de-faenamiento-de-balzar/

- EL PERIÓDICO DEL ECUADOR. (2014). A propósito de la crisis ganadera. Recuperado de http://elperiodicodelecuador.com/?p=6074
- ESPINOZA, ORTEGA, R. (2010). Prevalencia de Brucelosis Bovina en el Cantón Gualaquiza, Provincia de Morona Santiago. (Tesis inédita de Pregrado) Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cuenca-Ecuador.
- ESCOBAR IGLESIAS, F., D. (2011). Incidencia Prevalencia Y Plan De Control De Brucelosis Bovina En Hatos Lecheros De La Sierra Norte Ecuatoriana. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica. Riobamba-Ecuador.
- FERNÁNDEZ GARCÍA, David. (2011). Contribución al estudio epidemiológico de la brucelosis bovina en la Comunidad Autónoma de Galicia: investigación y aplicabilidad de nuevas técnicas diagnósticas. Universidad de Santiago de Compostela. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, 2011. ISBN 978-84-9887-615-4.
- FRANCO MUÑOZ F. N., & LOZA SACON C. (2009). Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en el cantón Flavio Alfaro mediante las pruebas de Rosa De Bengala Y Elisa competitivo. (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí "Manuel Félix López. Carrera Pecuaria, Calceta.
- GOBIERNO AUTONOMO DECENTRALIZADO DEL CANTON LOMAS DE SARGENTILLO (2014). Plan de desarrollo. Recuperado de: http://www.lomasdesargentillo.gob.ec/
- GARCÍA SAMARTINO, C., Lic. (2010). Interacciones de Brucella abortus con la inmunidad innata del sistema nervioso central como determinante de patogénesis de la neurobrucelosis. (Tesis inédita doctoral). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de Ciencias Biológicas. Buenos Aires.
- HELD, P., Ph.D., JOLLE, M. E. Ph.D., & DIACHEMIX CORPORATION. (2010). Fluorescence Polarization Detection of Brucella abortus and Mycobacterium bovis specific antibodies Using Kits from Diachemix. Veterinary Diagnosis of Brucellosis and Tuberculosis. AN072110_14, Rev. 7/21/10.

- IBRAHIM, N., BELIU K., & FIKRE, L. (2010). Sero-prevalence of bovine brucellosis and its risk factors in Jimma zone of Oromia Region, Southwestern Ethiopia. Tropical Animal Health and Production, Volume 42, Issue 1, pp. 35 40.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO SUBGERENCIA DE PROTECCIÓN ANIMAL DIRECCIÓN TÉCNICA DE SANIDAD ANIMAL. (2010). Brucelosis Bovina, prevención, diagnóstico y control. Ministerio de Agricultura y protección rural. Bogotá, D.C. Colombia.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS Y CENSOS. (2011). Datos Estadísticos Agropecuarios. Quito-Ecuador.
- LLOP HERNÁNDEZ, A., VALDEZ-DAPENA VIVANCO, M.M., & ZUAZO SILVA, J.L. (2001) Microbiología y parasitologías médicas, tomo 1 y 2. Editorial Ciencias Médicas, La Habana.
- MEDLINEPLUS. (2014). MedLine Plus Enciclopedia Medica. Brucelosis. Recuperado de:
 - http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000597.htm
- MEZA, A. C., MORALES, S., Ara, M., MANCHEGO, A., Calle, S., &, ANGULO C. (2010). SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL DISTRITO DE PUERTO INCA, HUÁNUCO. Rev Inv Vet Perú 2010; (2): 223-226.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA, ACUACULTURA Y PESCA. (2014). Pedernales: MAGAP informa a los GAD intervención en territorios. Recuperado de http://www.agricultura.gob.ec/pedernales-magap-informa-a-los-gad-intervencion-en-territorios/
- MINISTERIO DE LA COORDINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN, EMPLEO Y COMPETITIVIDAD. (2011) Agendas para la Transformación Productiva Territorial: Provincia de Manabí.
- NEPPAS, M., M. (2013). Prevalencia de brucelosis bovina mediante prueba de anillo en leche (ring test) y rosa de bengala en la asociación agropecuaria

- el ordeño de la Chimba Cayambe 2012. (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Quito.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. (2012). BRUCELOSIS BOVINA Manual de la OIE sobre animales terrestres. (C A P Í T U L O 2 . 4 . 3). NB: Versión adoptada en la Asamblea Mundial de Delegados de la OIE en mayo de 2009.
- PADRÓN TELLO, O., MARTÍNEZ HERRERA D. I., PENICHE CARDEÑA, A.,
 & LÓPEZ DE BUEN, L. (2014). Historia de la brucelosis. Revista: La ciencia y el hombre Universidad Veracruzana Volumen XXIV Número 2.
- PAREDES VARGAS, S., R. (2012). Determinar La Prevalencia De Brucelosis Bovina Y Factores De Riesgo En La Parroquia Alluriquin, Recinto Cristal De Lelia. (Tesis de Pregrado). Escuela Politécnica Del Ejército Departamento De Ciencias De La Vida Carrera De Ingeniería Agropecuaria Santo Domingo.
- PENICHE CARDEÑA, A., MARTÍNEZ HERRERA, D., BARRADAS PIÑA F., FRANCO ZAMORA, J., MOLINA SÁNCHEZ, B., GUTIÉRREZ RUIZ, E., WILLIAMS, J., MORALES ÁLVAREZ F., & FLORES CASTRO R. (2009). Eficacia Vacunal de las cepas rb51 y s19 de Brucella abortus en hatos naturalmente infectados con brucelosis en áreas tropicales del sur de Veracruz, México. Avances en la Investigación Agrícola, Pecuaria, Forestal y Acuícola en el Trópico Mexicano 2009.
- POZO ROSERO, M., & NOROÑA CHANGOLUISA G. (2011). Determinación de *Brucelosis bovina* (*Brucella abortus*) con la prueba rosa de bengala en la asociación "Unión Libre" de la parroquia 10 de Agosto provincia de Pastaza. (Tesis de pregrado). Unidad Académica De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Medicina Veterinaria y Zootecnia. Latacunga.
- REYES, J., MV, Msc; SÁNCHEZ, M., Microb, Msc; LOTERO M., Microb; RESTREPO, M., MD, Esp; & Palacio L., MV, Msc, PhD. (2010). Seroprevalencia e incidencia de Brucella sp en vacunadores del Programa para el control de brucelosis bovina, en el Departamento de Antioquia-Colombia. Universidad de Antioquia, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.
- STEIN SILVIA MARCELA. (2006). BRUCELOSIS INMUNIDAD Y VACUNACIÓN. REVISTA ELECTRÓNICA DE VETERINARIA REDVET; 7 (5).
- THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALH, & INSTITUTE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN ANIMAL BIOLOGICS. (2009). Brucelosis. Iowa State University. College of Veterinary Medicine.

VARGAS, F. (2012). Brucella Abortus en Bovinos. (Monografía de Pregrado).
 Universidad Agraria Autónoma Antonio Navarro, Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia. Torreón Coahuila, México.

()

ANEXO I

HOJA DE REGISTRO

Nombre del investigador:	
Fecha:	Especies en investigación
Propietario:	
Dirección:	
1 Tipo de explotación:	Leche Carne Mixta
2 Tipo de reposición. Co	n animales propios SI NO
3 Numero de animales: -	
4 Sistema de utilización	de pasto: Intensivo Extensivo
5 Enfermedades comune	es: ———
6 Historia de precedente	s de abortos en las vacas SI NO
7 Vacunas administradas	S.
Tipos de vacunas: 1.—	mes/año
Porc	entaje de animales vacunados
2.—	mes/año
Porc	entaje de animales vacunados
Vacunados contra bruc	celosis: SI NO mes/año
	Tipo de vacuna:
	Porcentaje de animales vacunados ————

ANEXO II

Hojas de Muestras

Hcda: "Tres Princesas"

1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	38	39	40	41	42	43	44	45
46	47	48	49	50	51	52	53	54
55	56	57	58	59	60	61	62	63
64	65	66	67	68	69	70	71	72

73	74	75	76	77	78	79	80	81
82	83	84	85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96	95	98	99
100	101	102	103	104	105	106	107	108
109	110	111	112	113	114	115	116	117
118	119	120	121	122	123	124	125	126
127	128	129	130	131	132	133	134	135
136	137	138	139	140	141	142	143	144
145	146	147	148	149	150	151	152	153
154	155	156	157	158	159	160	161	162
162	164	165	166	167	168	169	170	171
172	173	174	175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186	188	188	189
190	191	192	193	194	195	196	197	198
199	200							

Hoja de Muestras

Hcda: "La Rosita"

1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	38	39	40	41	42	43	44	45
46	47	48	49	50	51	52	53	54
55	56	57	58	59	60	62	62	63
64	65	66	67					

Hoja de Muestras

Hcda: "La Pastora"

1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	32	33	34	35	36

ANEXO III

FOTOGRAFÍAS

Entrevista con los Propietarios y vaqueros

Foto N° 1:



Toma de muestras

Foto N° 2:



Muestras recolectadas

Foto N. 3



Fuente: El autor

Foto N. 4



Fuente: El autor

Foto N. 5



Manejo de las Muestras

Foto N. 6



Fuente: El autor

