



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp* EN
MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA
ESCUELA DE ZOOTÉCNICA DE LA ESCUELA SUPERIOR
POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO EN EL PERÍODO DE ABRIL -
JUNIO 2016”**

Trabajo de Titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: BRENDA MARIUXI PINARGOTE BERRONES

TUTOR: DR. CARLOS EDUARDO ESPINOZA

Riobamba-Ecuador

2016

©2016, Brenda Mariuxi Pinargote Berrones

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El Proyecto de investigación: **DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp*, EN MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE ZOOTÉCNICA DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO EN EL PERIODO DE ABRIL – JUNIO 2016**, de responsabilidad de la señorita Brenda Mariuxi Pinargote Berrones, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizado su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Carlos Espinoza

DIRECTOR

TRABAJO DE TITULACIÓN

.....

.....

Dra. Verónica Cando

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

Yo, Brenda Mariuxi Pinargote Berrones soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Brenda Mariuxi Pinargote Berrones

092117901-6

DEDICATORIA

El presente trabajo dedico al Divino Niño por Bendecirme en cada momento de mi vida, permitiéndome aportar con conocimiento y llegar a cumplir las metas propuestas.

A mis padres, Brenda y Edison que han sido mi pilar fundamental para conseguir este logro además de ser ejemplo de superación.

A mis amigas/os y a todas esas personas excepcionales que me han demostrado su apoyo incondicional en todo momento.

De todo corazón dedico este nuevo logro en mi vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme cumplir una meta más en mi vida y por conocer a personas de valores que han aportado con su enseñanza.

A mi madre Brenda Berrones por demostrarme que con esfuerzo y perseverancia se pueden lograr los objetivos de la vida; por su amor incondicional y por su esfuerzo para permitir que cumpla con mis sueños.

A mi padre Edison Pinargote que siempre me ha dado consejos, por su apoyo incondicional y por su amor de padre.

Al Dr. Carlos Espinoza y Dra. Verónica Cando por aportar con su conocimiento y consejos oportunos en el Trabajo de Titulación.

A los estudiantes de la escuela de Zootecnia que de manera favorable hicieron parte de este trabajo de titulación.

A todas las personas, amigos y familiares que de una u otra manera aportaron en la realización exitosa de este trabajo.

Les agradezco con mucho amor y gratitud.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó anticuerpos contra *Brucella spp.* en muestras de suero sanguíneo de los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se realizó el estudio en un total de 106 estudiantes de todos los niveles de la Escuela de Zootecnia; primero se aplicó una encuesta epidemiológica y un consentimiento informado, luego se tomó aproximadamente 10 cc de sangre mediante punción venosa para obtener suero sanguíneo mediante vacuntainer y fueron analizados según las técnica presuntiva Rosa de Bengala y a las muestras que presentaban los factores de riesgos se realizó la prueba confirmatoria 2- Mercaptoetanol. En el estudio, los 106 estudiantes resultaron NEGATIVO a la presencia de anticuerpos contra *Brucella spp.* , es decir 0% de los estudiantes presentan el agente patógeno; se concluyó que los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica, no evidencian la infección a pesar de que consumen productos lácteos sin pasteurizar y están en contacto con los animales vacunos. Se recomienda que se realice el estudio en los mismos estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica pero con otras pruebas de laboratorio para confirmar los resultados obtenidos.

Palabras clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <MICROBIOLOGIA>, < *Brucella spp* (BACTERIA)>, < ZOONOSIS > < ANTICUERPOS > <PATOLOGÍA BACTERIANA> <VACUNTAINER (INSTRUMENTO)>

SUMMARY

In the present research work antibodies against *Brucella spp*, were determined in samples of blood serum of the students of the Zootechnical Engineering School. The study was carried out in a total of 106 students of all the levels of the school; first an epidemiological survey and an informed consent were applied, then approximately 10 cc of blood was taken by venous puncture to obtain blood serum by means of vacuntainer and were analyzed according to the Rosa de Bengala technique and the samples that presented the risk factors were made the confirmatory test 2 Mercaptoetanol. In the study, the 106 students were negative for the presence of antibodies against *Brucella spp*, that is 0% of the students present the pathogen; it was concluded that the students of the Zootechnical Engineering School do not show the infection despite consuming unpasteurized dairy products and are in contact with the bovine animals. It is recommended that the study be performed in the same students but with other laboratory tests to confirm the results obtained.

KEY WORDS: <TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES>, <MICROBIOLOGY>, <*Brucella spp* (BACTERIA)>, <ZOOONOSIS>, <ANTIBODIES>, <BACTERIAL PATHOLOGY>, <VACUNTAINER (INSTRUMENT)>

ÍNDICE

RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	6
1.1. Zoonosis.....	6
1.1.1. <i>Concepto</i>	6
1.1.2. <i>Principales zoonosis</i>	7
1.1.3. <i>Principales reservorios para la zoonosis</i>	8
1.2. Bacteria <i>Brucella spp</i>	9
1.2.1. <i>Etiología</i>	9
1.2.2. <i>Taxonomía y especie</i>	10
1.2.2.1. Taxonomía.....	10
1.2.2.2. Especies	10
1.2.3. <i>Características morfológicas</i>	11
1.2.3.1. Estructura de la bacteria.....	11
1.2.4. <i>Resistencia y supervivencia de la bacteria</i>	12
1.2.4.1. Período de incubación.....	13
1.3. <i>Brucelosis</i>	14
1.3.1. <i>Sinonimia</i>	14
1.3.2. <i>Etiología</i>	14
1.3.3. <i>Clasificación</i>	14
1.3.3.1. Brucelosis humana.....	14
1.3.3.1.1. Síntomas	15
1.3.3.1.2. Modos de transmisión	16
1.3.3.1.3. Tratamiento.....	17
1.3.3.1.4. Patologías provocadas.....	18
1.3.3.1.5. Serotipos para humanos	19
1.3.3.1.6. Morbilidad y mortalidad	19

1.3.3.2.	Brucelosis animal.....	20
1.3.3.2.1.	Síntomas	21
1.3.3.2.2.	Modos de transmisión	21
1.3.3.2.3.	Manifestaciones clínicas	21
1.3.3.2.4.	Serotipos para animales	21
1.4.	Formas de identificación en el laboratorio	22
1.5.	Programas de control, prevención y erradicación de Brucelosis	24
1.6.	Método Delphi.....	25

CAPÍTULO II

2.	METODOLOGÍA	26
2.1.	Lugar de investigación.....	27
2.2.	Materiales, Equipos y Reactivos.....	27
2.2.1.	<i>Materiales y equipos</i>	27
2.2.2.	<i>Reactivos</i>	28
2.3.	Técnicas y Métodos.....	28
2.3.1.	<i>Técnica de toma de muestras</i>	28
2.3.2.	<i>Procesamiento de las muestras</i>	29
2.3.2.1.	Prueba rápida en placa con antígeno Rosa de Bengala	29
2.3.2.2.	Aglutinación lenta en presencia de 2-mercaptoetanol.....	29
2.3.2.3.	Prueba de Anillo en Leche	30

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
3.1.	Resultados de la encuesta	31
3.2.	Resultados del análisis de sueros sanguíneos	41
	CONCLUSIONES.....	44
	RECOMENDACIONES.....	45

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Zoonosis más comunes según el agente etiológico.....	7
Tabla 2-1. Clasificación taxonómica de Brucella	10
Tabla 3-1. Especies de Brucella, características de colonia, biotipos y hospedadores	10
Tabla 4-1. Supervivencia de Brucella en el medio ambiente	13
Tabla 5-1. Mecanismos de transmisión de la infección	17
Tabla 6-1. Principales antibióticos utilizados para el tratamiento de la brucelosis en seres humanos	17
Tabla 7-1. Diagnóstico de brucelosis bovina en Ecuador	20
Tabla 1-3. Estadístico del Grupo etario	31
Tabla 2-3. Lugar de procedencia de los estudiantes	32
Tabla 3-3. Consumo de lácteos sin pasteurizar.....	33
Tabla 4-3. Frecuencia de consumo de leche sin pasteurizar	34
Tabla 5-3. Lugar donde adquiere leche que consume.....	35
Tabla 6-3. Frecuencia de consumo de queso fresco.....	36
Tabla 7-3. Lugar donde adquiere queso fresco	37
Tabla 8-3. Tiene animales vacunos	39
Tabla 9-3. Cantidad de animales vacunos	40
Tabla 10-3. Mantiene un contacto directo con animales vacunos.....	41
Tabla 11-3. Resultado del análisis mediante Rosa de Bengala	41
Tabla 12-3. Resultado del análisis mediante 2- Mercaptoetanol.....	42
Tabla 13-3. Casos por distrito de salud. Año 2014-2015.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Membrana externa de la bacteria Brucella.....	12
Figura 2-1. Mecanismos de transmisión de brucelosis	16

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1-1. Manifestaciones localizadas y complicaciones de la brucelosis	15
--	-----------

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráficos 1-3. Grupo etario que acudieron a realizarse la toma de muestras	31
Gráficos 2-3. Género de los estudiantes que acudieron a la toma de muestras	32
Gráficos 3-3. Lugar de procedencia de los estudiantes	33
Gráficos 4-3. Consumo de lácteos sin pasteurizar	34
Gráficos 5-3. Frecuencia de consumo de leche cruda.....	35
Gráficos 6-3. Lugar donde adquiere leche que consume	36
Gráficos 7-3. Frecuencia del consumo de queso fresco	36
Gráficos 8-3. Lugar donde adquiere queso fresco	37
Gráficos 9-3. Consumo de carne de res	38
Gráficos 10-3. Frecuencia de consumo de carne de res	38
Gráficos 11-3. Lugar donde adquiere carne de res	38
Gráficos 12-3. Tiene animales vacunos	39
Gráficos 13-3. Cantidad de animales vacunos	40
Gráficos 14-3. Contacto con animales vacunos	41

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografías 1-3. Materiales para la toma de muestras	55
Fotografías 2-3. Toma de muestra de sangre.....	55
Fotografías 3-3. Separación del suero sanguíneo	56
Fotografías 4-3. Reactivos para las pruebas serológicas	56
Fotografías 5-3. Unidad de lectura para aglutinación.....	56
Fotografías 6-3. Análisis mediante la prueba Rosa de Bengala.....	57
Fotografías 7-3. Prueba Rosa de Bengala	57
Fotografías 8-3. Control positivo (izquierdo) y negativo Rosa de Bengala.....	57
Fotografías 9-3. Muestras de sueros sanguíneos congeladas	58
Fotografías 10-3. Reactivos y materiales para la prueba 2-Mercaptoetanol	58
Fotografías 11-3. Análisis mediante la prueba 2-mercaptoetanol.....	58
Fotografías 12-3. Análisis con 2-mercaptoetanol.....	59
Fotografías 13-3. Muestra con 2-mercaptoetanol en la estufa por 24 horas	59
Fotografías 14-3. Controles positivos y negativos 2- mercaptoetanol	59
Fotografías 15-3. Muestras de leche y reactivos de la Prueba de Anillo en leche	60
Fotografías 16-3. Resultado de la Prueba de Anillo en leche.	60

INTRODUCCIÓN

Brucelosis una enfermedad infectocontagiosa ampliamente difundida en toda América Latina, debido a esto sus pérdidas económicas están cercanas a los 600 millones de dólares; (ESPINOSA, J., 2011. p.27) la falta de datos actualizados y concretos hace que sea imposible conocer con fidelidad el grado de difusión en los distintos países.

Esta zoonosis es producida por diferentes especies de *Brucella*, a continuación se mencionan: *B. abortus* (ganado bovino), *B. melitensis* y *ovis* (caprinos y ovinos), *B. suis* (cerdo), *B. canis* (perro). Cada una de estas especies tiene aspectos de crecimiento diferente en las colonias de medios sólidos. (CEVALLOS et al, 2010, pp. 27,28)

Además se mencionan *Brucella ceti*: cetáceos, *Brucella pinnipedialis*: pinnípedos, *Brucella microti*: ratón de campo y la más reciente *Brucella inopinata*: en humanos. Es considerada una antropozoonosis debido a que es capaz de afectar al animal y al hombre; llegando hacer unos de los problemas de salud más importantes y difundidos mundialmente según la FAO (Food and Agriculture Organization), la OMS (Organización Mundial de la Salud) y la OIE (Organización Mundial de la Salud Animal).

En humanos se presenta la enfermedad de manera aguda o latente con un síntoma común la astenia, fatiga y este a su vez acompañado de malestar generalizado, también presenta trastornos reproductivos como orquitis y disfunción eréctil en los hombres, e infertilidad y abortamientos en las mujeres; también se menciona la endocarditis bacteriana. (SOARES et al., 2015, p. 920)

Esta enfermedad infecciosa de origen animal puede representar un gran riesgo ocupacional a los individuos que trabajan con derivados pecuarios o aquellos que consuman productos provenientes de animales infectados, adquiriendo así una infección y hasta problemas muy graves de salud. (SOARES et al., 2015, p. 920)

El diagnóstico usual de brucelosis es confirmada por la demostración de *Brucella* en el organismo mediante una reacción antígeno-anticuerpo a partir del suero sanguíneo. Por lo general las pruebas serológicas son métodos rápidos, accesibles y de un costo aceptable pero con una dificultad su variabilidad de interpretación dependiendo el área endémica del individuo. (CEVALLOS et al, 2010, p. 28)

En Ecuador muy poco se utilizan estas pruebas para el diagnóstico de brucelosis en humanos, porque existe confusión con enfermedades de síntomas muy similares; el diagnóstico mediante la prueba de Elisa es considerada útil y rápida de screening. (CEVALLOS et al, 2010, p. 28)

Por todo lo mencionado nace la idea de realizar esta investigación, con el objetivo de conocer si en los sueros sanguíneos de los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica existe la presencia de anticuerpos contra *Brucella spp.*

Situación problemática

La brucelosis a escala mundial ha causado grandes e importantes repercusiones negativas como pérdidas económicas tanto en la industria pecuaria como en salud pública ya que las condiciones de salud de las personas se encuentran vinculadas con la cadena productiva que lo conforman; esta es una de las zoonosis de mayor importancia en salud pública por contacto directo o indirecto con animales enfermos, así como por la ingestión de productos infectados de origen animal.

La OMS calcula que en América Latina solo se llegan a reportar del 1-4% de los casos de enfermedades ocupacionales sin exceptuar los países industrializados. (LÓPEZ, P. 2014. p.75)

Si bien la prevalencia mundial de esta zoonosis en el ser humano es desconocida, se estima que a nivel global la brucelosis afecta a 500.000 personas al año, especialmente en países del área mediterránea, Arabia, India, México, América Central y Sudamérica.

Los países con más prevalencia de esta zoonosis son América Latina, Argentina, Perú y México pero con respecto a Ecuador sabemos que se tiene conocimiento de la existencia de esta enfermedad por el gran consumo de leche y queso sin pasteurizar además de la manipulación de productos procedentes de animales infectados en mataderos, se menciona además que en estos tampoco se encuentran registros actuales; la última encuesta serológica fue en el año de 1979 con una población bovina de las provincias de la Sierra y Costa ecuatorianas; desde esta fecha en adelante solo podemos encontrar algunos estudios locales como tesis de grado, mas no datos oficiales.

Esta zoonosis se asocia por lo general al sexo masculino que se encuentren entre los 30 y 40 años, además en población rural, así como también en veterinarios, laboratoristas, trabajadores de frigoríficos y personas trabajadoras de campo.

Se encuentran estudios realizados acerca de brucelosis en animales; uno de ellos se efectuó en 1999 en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; el cual consistió en un análisis para conocer la incidencia de brucelosis en las seis zonas ganaderas más importantes de la provincia de Chimborazo, y se reportó con la técnica Rosa de Bengala 3,35% respecto a la técnica de antígeno de *Brucella abortus* 2,5%. Además de que se estudió en animales de la Comunidad de Tunshi San Nicolás el cual no evidenció casos positivos, encontrándose libre de esta infección. (MORENO C., 1999)

Otro estudio acerca de la incidencia-prevalencia y plan de control de brucelosis bovina en hatos lecheros de la sierra norte ecuatoriana evidencia que la provincia de mayor prevalencia para esta zoonosis es Carchi y la de menor es la provincia de Imbabura. (ESCOBAR F., 2011, p.33)

En la Universidad Estatal de Quevedo se realizó una investigación para determinar la incidencia de brucelosis humana, en los camales municipales mediante la técnica de LAMP, con un total de 84 muestras de sangre; lo que dio como resultado a un caso positivo con una prevalencia del 0,84%. Se puede destacar que la técnica de LAMP es una herramienta muy útil en el diagnóstico de brucelosis. (Cedeño, P. 2012. pp. 11,33)

Por todo lo mencionado y al desconocerse datos oficiales de brucelosis humana en los estudiantes de la Escuela de Zootécnica (ESPOCH); así como tampoco hay indicadores o estudios de este problema de salud por el gran contacto directo de sus estudiantes con los animales debido a su carrera; de allí la razón que motiva a realizar el presente estudio de investigación.

En este sentido, se hace necesario elaborar un estudio piloto, en donde se puedan obtener datos seroepidemiológicos que indiquen cual sería la situación actual de esta zoonosis en los estudiantes que pertenecen a la Escuela de Ingeniería Zootécnica.

Justificación de la Investigación

Brucelosis es la zoonosis considerada tanto por la OMS, FAO como la enfermedad transmisible más persistente en todo el mundo, perteneciente a la lista B de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizootias.

De acuerdo a la OIE, esta zoonosis está considerada como una enfermedad de control oficial y de declaración obligatoria; por lo que es necesario que las entidades públicas y privadas del sector agropecuario, los médicos veterinarios y profesionales afines al sector debidamente autorizados, participen en los programas de prevención, control y erradicación de la enfermedad. (Registro oficial, 2008, p. 1)

En el objetivo 3 del Plan Nacional del Buen Vivir señala acerca de mejorar la calidad de vida de la población; de manera que se “promueva el mejoramiento de la calidad en la prestación de servicios de atención que componen el Sistema Nacional de Inclusión y Equidad Social”, con el fin de que se promocióne la salud y las condiciones de vida de las personas. (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 201, p.137)

Debido a que no se han realizado estudios en humanos en la provincia de Chimborazo se hace relación con estudios ejecutados en animales vacuno, por ende mediante estos datos se puede deducir que en los estudiantes de la Escuela de Zootecnia posiblemente esté presente la bacteria, por la existencia de la misma en sus alrededores.

En la actualidad es necesario hablar y entender acerca de los riesgos que esta enfermedad provoca ya que su exposición en humanos está relacionada íntimamente con la enfermedad en animales domésticos y de campo; debido al desconocimiento seroepidemiológico acerca de esta situación se toma como principal objetivo de interés determinar anticuerpos contra *Brucella spp.* en los sueros sanguíneos de los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica; por ser un problema de salud tan cercano hacia cada uno de nosotros se profundiza sobre los riesgos de la brucelosis para así lograr facilitar datos de esta zoonosis dentro de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Objetivos de la Investigación

Objetivo general

Determinar anticuerpos contra *Brucella spp.* en suero sanguíneo de los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica, ESPOCH.

Objetivos específicos

- ✚ Elaborar una encuesta epidemiológica que permita conocer la susceptibilidad de los estudiantes de la Escuela de Zootecnia, ESPOCH frente a *Brucella spp.*
- ✚ Validar la encuesta epidemiológica mediante el método Delphi.
- ✚ Detectar anticuerpos contra *Brucella spp.* en suero sanguíneo de los estudiantes de la Escuela de Zootecnia a través de la técnica presuntiva Rosa de Bengala.
- ✚ Realizar un análisis confirmatorio de *Brucella spp.* mediante la prueba 2- mercaptoetanol.
- ✚ Capacitar sobre las principales secuelas provocadas por brucelosis en el ser humano.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Zoonosis

1.1.1. *Concepto*

Zoonosis conjunto de enfermedades transmisibles que tiene dos actores principales la persona que es la infectada y el animal que es el reservorio y a su vez vector de este grupo de enfermedades, todo esto conlleva a una relación entre la salud pública, ambiente y el bienestar socioeconómico por lo que requieren actividades coordinadas y concertadas por el Ministerio de Salud Pública con la participación de otras entidades nacionales e internacionales. (MINSA, 2015)

Una zoonosis puede ser originada por diversos agentes tal es el caso de parásitos, bacterias o virus; formando así parte de un grupo de enfermedades de los animales infectados que son transmitidas al ser humano de manera directa mediante algún fluido corporal como la orina o saliva, además puede ser transmitido por consumo de alimentos de origen animal que no cuenten con los registros sanitarios adecuados, además por no recibir una debida cocción. (PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE ENFERMEDADES ZONÓTICAS, 2015)

El objetivo de la Estrategia Sanitaria Nacional de Zoonosis es fortalecer el gerenciamiento de las acciones de prevención y control de la zoonosis de manera interinstitucional e intersectorial, para así lograr mejorar la salud de las personas en el marco de la Atención Integral de Salud. (MINSA, 2015)

Los mecanismos de transmisión generalmente son muy complejos y variados:

- ✚ Zoonosis de transmisión directa; se da por contacto directo con el animal vivo, alimentos derivados del mismo.
- ✚ Zoonosis transmitidas por medio de vectores, se da a través de la cadena de transmisión entre los animales y el hombre. (Salud ambiental, 2002)

1.1.2. Principales zoonosis

En la actualidad se mencionan cerca de 200 enfermedades zoonóticas que el ser humano puede padecer y que son de interés para la salud pública; en países en vías de desarrollo son causa de morbimortalidad además de cuantiosas pérdidas económicas. (Salud ambiental, 2002)

Una enfermedad zoonótica afecta en común a toda la población pero en especial a niños, personas inmunodeprimidas y a cuyos individuos que estén en contacto directo con animales y/o productos derivados de los mismo. Los principales aliados de esta zoonosis son la convivencia con animales, ausencia de infraestructuras sanitaria y el bajo nivel cultural. (Salud ambiental, 2002)

El programa control de la zoonosis menciona las patologías más comunes Tabla 1-1:

Tabla 1-1. Zoonosis más comunes según el agente etiológico

Virales	Bacterianas	Parasitarias	Micóticas
<ul style="list-style-type: none"> - Rabia - Gripe aviar - Hantavirus ébola - Encefalitis equina venezolana - Fiebres hemorrágicas - Ectima contagioso - Hepatitis aftosa - Coriomeningitis new castle - Fiebre amarilla 	<ul style="list-style-type: none"> - Ántrax peste - Brucelosis - Leptospirosis - Tifus - Estreptobacilosis - Campilobacteriosis - Tétanos - Muermo - Listeriosis - Pasteurelisis - Psitacosis - Salmonelosis - Tuberculosis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sarcosporidiosis ▪ Toxoplasmosis ▪ Chagas ▪ Tripanosomiasis ▪ Teniasis ▪ Cisticercosis ▪ Hidatidosis ▪ Ancylostomiasis ▪ Triquinosis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiña

Fuente: MSP, 2008

Desde el punto de vista de la Salud Pública las más importantes son las Antropozoonosis:

- **Rabia:** Producida por un virus que habita en las glándulas de los animales afectados, en nuestro país el animal reservorio es el murciélago; causa parálisis, demencia agresividad, afectividad en el sistema nervioso e incluso la muerte.
- **Leptospirosis:** Enfermedad bacteriana que si no se trata puede causar la muerte, afecta al hígado y riñones, presentando ictericia, orina en sangre y fiebre. Su reservorio natural es el ratón.
- **Toxoplasmosis:** Afecta a todos los mamíferos, es producida por un protozoo. La infección en la mujer en gestación durante los tres primeros tres meses puede causar aborto o malformación en el feto.

- Bartonelosis: Producida por la bacteria *Bartonella*, se transmite por arañazos de gato ya que ahí es donde se encuentra presente. (Guioteca, 2011)
- Brucelosis: Zoonosis que lleva más de un siglo descubierta, razón por la cual se encuentra dentro de la lista de la OIE, enumerada como enfermedad transmisible desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario a nivel nacional. Algunos países ya han logrado una erradicación de esta zoonosis por lo que su situación sanitaria ha mejorado en las regiones; (MARTINEZ Oscar, 2008, p. 3) en Ecuador la primera notificación sobre la existencia de brucelosis en ganadería fue en 1955. (PAREDES, Sergio. 2012. p. 22)
Esta zoonosis ha tomado mucha importancia en el área de Salud Pública, debido a que se manifiesta que se producirán entre 400 y 500 mil nuevos casos a nivel mundial. (PAREDES, Sergio. 2012. p. 18)
- Tiña: Es producida por un hongo, ocasiona lesión alopecica de forma circular y localizada.
- Sarna: Ocasionada por un ácaro; genera picazón, reacción alérgica. (Guioteca, 2011)

1.1.3. Principales reservorios para la zoonosis

Una zoonosis puede ser transmitida tanto por animales domésticos como por animales silvestres; los agentes causales de esta enfermedad son los virus, bacterias, parásitos, hongos y agentes no convencionales como los priones. (PORTUGAL Juan, 2013)

Por lo general todos los animales domésticos son el reservorio para que se dé una zoonosis debido a la relación que existe entre la persona y el animal:

El gato transmite una de las zoonosis parasitarias, es el caso de la toxoplasmosis; en el caso de la brucelosis, esta es causada por la bacteria *Brucella* que se encuentra en los siguientes animales: El ganado: vacuno, ovino, porcino, caprino, equino; animales silvestres: Bisontes, alces y ciervos; otros mamíferos domésticos.

Así mismo es el caso de ciento de zoonosis que se da a partir de sus reservorios; tularemia es una zoonosis que aparte de ser su reservorio los animales domésticos también lo son los vectores tales como garrapatas, tabánios y mosquitos. (ACHA et al., 2001, p.290) Además existen otros reservorios como: los mamíferos silvestres, roedores, mamíferos domésticos y aves silvestres. (ACHA et al., 2001, p. 313)

En síntesis la zoonosis es causada debido a que la mascota se enferma, por tal razón transmite el microorganismo u parásito al individuo; a continuación se mencionará las más frecuentes de acuerdo a su agente causal:

Parásitos: Estos pueden ser microscópicos tal es el caso de los protozoarios o visibles como las pulgas, garrapatas o lombrices intestinales que generan los siguientes padecimientos nombrados: Anquilostomiasis, hidatidosis, toxoplasmosis, Giardiasis, leishmaniosis, dirofilariosis, sarna. (PORTUGAL Juan, 2013)

Virus: Estos no pueden reproducirse por su propia cuenta, ocasionan enfermedades en organismos de animales o vegetales; causando las siguientes zoonosis: Rabia (murciélagos, ratas, mapaches), coriomeningitis linfocitaria (roedores originarios de América), hanta (ratas y roedores silvestres), gripe aviar (aves). (PORTUGAL Juan, 2013)

Bacterias: Microorganismos que sobreviven en ambientes muy diversos y en algunos casos se transmiten al individuo causando enfermedades tales como: Leptospirosis (*Leptospira*), fiebre Q (*Coxiella burnetii*), enfermedad por arañazo de gato (*Bordetella*), salmonelosis (*Salmonella*), psitacosis (*Chlamydia psittaci*), peste (*Yersinia pestis*), tos canina. (PORTUGAL Juan, 2013)

Hongos: Solo pocos son capaces de ocasionar daño al individuo, causan estos padecimientos: Tiñas, los hongos *Microsporum* causan infección en piel de gatos, caballos, perros. Otra afección que puede ser diseminado por el gato es la esporotricosis. (PORTUGAL Juan, 2013)

1.2. Bacteria *Brucella spp*

Brucella género descrito así en honor a David Bruce, quien fue enviado a la isla Malta a descubrir el origen del padecimiento febril que acababa con los soldados; en 1887 aisló la bacteria del bazo de un soldado fallecido. (LUCERO et al., 2008, p. 4)

1.2.1. Etiología

Brucelosis deriva de la infección producida por varias especies de *Brucella* de la familia *Brucellaceae*; en los animales se encuentran identificados seis especies, *B. abortus*, *B. mellitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* y *B. neotomae*.; en mamíferos marinos no se identifica aun la especie aunque se tiene propuesto *B. maris* para todas las cepas o *B. pinnipediae* para las cepas de las focas, elefantes marinos y morsas. (SPICKLER, A. et al., 2011, p. 104)

Cada especie de *Brucella* está relacionado con determinados huéspedes, en general, *B. abortus* causa brucelosis en el ganado bovino, *B. mellitensis* es la especie más importante en ovejas y cabras, *B. ovis* causa infertilidad en carneros, *B. canis* exclusivamente afecta a los perros y *B. neotomae* se familiariza con roedores aunque no se ha vinculado con la enfermedad. (SPICKLER, A. et al., 2011, p. 104)

Mundialmente se reconocen 9 biotipos de *Brucella abortus* de los cuales en Argentina se describe la biovariedad 1, 2 ,4 y 6; siendo la principal y más reconocida por causar aborto en bovinos además de infectar animales silvestres. (DRAGHI; M., p. 105)

Las especies de *Brucella* que producen brucelosis en los humanos son la *B. mellitensis*, *B. abortus* y *B. suis* biotipos 1-4; se menciona que la evidencia genética e inmunológica sugiere que todos los miembros del género *Brucella* están relacionados y algunos de los microbiólogos han propuesto que *B. mellitensis* sea nombrado como una sola especie, incluyendo sus biotipos. (SPICKLER, A. et al., 2011, p. 104)

1.2.2. Taxonomía y especie

1.2.2.1. Taxonomía

Tabla 2-1. Clasificación taxonómica de *Brucella*

Reino	Procariote
Filo	Proteobacteria
Clase	Proteobacteria alfa
Orden	Rhizobiales
Familia	Brucellaceae (familia III)
Género	<i>Brucella</i>

Fuente: Institutes National of Health, 2010

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016

1.2.2.2. Especies

El género *Brucella* se encuentra compuesto por diez especies que hasta el momento se conocen, presentando en algunas de ellas ciertos biotipos, debido a sus características antigénicas y las de su hospedador. Las especies que infectan al ser humano con mayor frecuencia debido a su capacidad son: *B. mellitensis* (98%) y *B. abortus* (2%). (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

La existencia de los distintos biotipos en ciertas especies de *Brucella*, es debido a la estructura que demuestra la membrana externa de cada una de ellas. A continuación la Tabla 3-1 menciona las especies y sus biotipos. (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

Tabla 3-1. Especies de *Brucella*, características de colonia, biotipos y hospedadores

Especie de <i>brucella</i>	Características de la colonia de <i>brucella</i> en medio sólido	Biotipos	Hospedadores conocidos
<i>B. mellitensis</i>	Colonia lisa	1-3	Cabras, bovinos, ovinos, cánidos, hombre

<i>B. abortus</i>	Colonia lisa	1-9	Bovinos, cánidos, hombre
<i>B. suis</i>	Colonia lisa	1-5	Cerdos, cánidos, hombre
<i>B. canis</i>	Colonia rugosa		Cánidos, hombre
<i>B. ovis</i>	Colonia rugosa		Ovinos
<i>B. neotomae</i>	Colonia lisa		Roedores
<i>B. ceti</i>			Delfines, marsopas, ballenas
<i>B. pinnipedialis</i>			Focas
<i>B. microti</i>			Zorros rojos, roedores de campo
<i>B. inopinata</i>			Desconocido

Fuente: Álvarez et al., 2015

Realizado por: Álvarez, 2015

Respecto a las colonias acotamos que las cepas lisas son las virulentas, su ultraestructura es similar a la de algunas enterobacterias y por lo general infectan al género femenino; en cambio las cepas rugosas afectan a los machos. (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

1.2.3. Características morfológicas

Brucella es un género de pequeños cocobacilos Gram negativos, inmóviles, aerobios estrictos, con un crecimiento corto y no poseen cápsula ni forman esporas. De 0.5-0.7µm de diámetro por 0.5-1.5µm de longitud. Estructuralmente su genoma está conformado por dos cromosomas circulares que carece de plásmidos y presentan metabolismo oxidativo. Por lo general son oxidasa y catalasa positiva, no altera la leche ni fermentan los azúcares; su mecanismo de transmisión se encuentra mediado por su ingreso exitoso al huésped ya sea por contacto directo con mucosas o heridas. (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 130)

1.2.3.1. Estructura de la bacteria

Estructura externa:

Brucella en su membrana externa es rica en fosfatidilcolina y el componente que tiene mayor relevancia es el lipopolisacáridos (LPS) llamado también endotoxina; se encuentra constituido por tres regiones:

1. Lípido A
2. Oligosacárido intermedio (Núcleo)
3. Polisacárido O - Cadena O (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

Brucella posee otro polisacárido nombrado hapteno nativo, químicamente idéntico a la cadena O pero que no se encuentra unido al núcleo y se ha descrito un tercero llamado poli B que según los autores equivale al hapteno nativo.

En la membrana externa las proteínas presentan gran importancia debido a su alta especificidad en comparación con las otras bacterias, además de que se encuentran estrechamente relacionadas con los lipopolisacáridos; de ahí su gran utilidad para el diagnóstico serológico e incluso en la fabricación de vacunas. (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

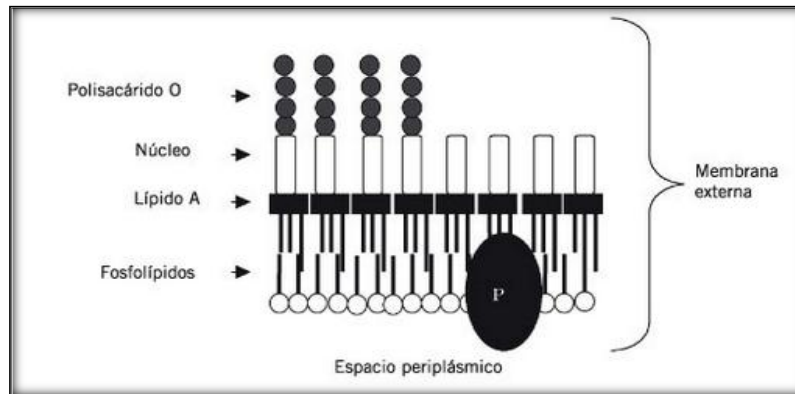


Figura 1-1: Membrana externa de la bacteria *Brucella*

Fuente: Castro, H et al, 2005

La membrana posee proteínas denominadas mayores que de acuerdo a sus pesos moleculares se clasifican en tres grupos: Grupo 1 (89-94 kDa), Grupo 2 (36-38 kDa) y Grupo 3 (25-27 y 31-34 kDa) y son menos accesibles en las cepas lisas que en las rugosas por el impedimento estérico ocasionado por las cadenas O y proteínas menores que con el uso de anticuerpos monoclonales se han identificado como lipoproteínas. (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 131)

Estructura interna:

Dentro de la estructura interna se encuentra las proteínas citoplasmáticas de *Brucella* que son compartidas por todas las especies; algunas de estas son de interés diagnóstico como la que se menciona a continuación:

- Glucoproteína A2 termorresistente
- Proteínas periplásmica BP26 (ÁLVAREZ et al., 2015, p: 132)

1.2.4. Resistencia y supervivencia de la bacteria

Brucella es una bacteria capaz de sobrevivir y persistir en ambientes diversos por largos periodos de tiempo dentro de condiciones adecuadas de temperatura, humedad, pH cercano a la neutralidad; en realidad no se encuentra información de que se repliquen significativamente en tierra, agua o estiércol bajo estas condiciones; se pronuncia que en restos de animales congelados las bacterias sobreviven por algunos años. (LÓPEZ, Ahidé. 2015)

Son bastante sensibles al calor, por tal motivo una suspensión de *Brucella* se destruye rápidamente frente a la pasteurización o al estar a una temperatura de 60 ° C por media hora; también son muy sensibles a la luz ultravioleta y a la mayoría de desinfectantes de uso común. (LÓPEZ, Ahidé. 2015). *Brucella* puede sobrevivir en el medio ambiente, fuera de un hospedador a continuación se detalla en la Tabla 4-1.

Tabla 4-1. Supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente

Material		Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol		80 días
Polvo		15-40 días
Leche a temperatura ambiente		2-4 días
Fluidos y secreciones en verano		10-30 minutos
Lanas de depósitos		110 días
Agua	37° C pH: 7,5	Menos de un día
	8° C pH: 6,5	Más de 57 días
Fetos en sombra		6-8 meses
Descarga vaginal mantenido en hielo		7 meses
Manteca a 8° C		1-2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca		21 días
Paja		29 días
Grasa de ordeño		9 días
Heces bovinas naturales		1-100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente		66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente		4 días

Fuente: Castro et al., 2005

1.2.4.1. Período de incubación

El periodo de incubación varía entre una a cinco semanas, la infección se propaga de manera sintomática o asintomática. Una vez la bacteria *Brucella* dentro del organismo induce la activación de los mecanismos de defensa participando en su inicio componentes de inmunidad innata y adaptativa; dentro de los mecanismos innatos se mencionan el complemento, neutrófilos y macrófagos y dentro de los mecanismos adaptivos se cuentan los linfocitos CD4 t, CD8 t, linfocitos B y producción de citoquinas. (MÉNDEZ I., et al; 2013)

En la entrada del organismo la bacteria es fagocitada por leucocitos polimorfonucleares, luego son conducidos a los ganglios linfáticos para que se multipliquen dentro de los fagocitos mononucleares; desde allí pueden transportarse a la sangre originando una bacteriemia. La *Brucella* se penetra a través de la piel o de las mucosas; ciertas veces la diseminación hematogena da lugar a una infección localizada en órganos y tejidos que sean ricos en células del sistema reticuloendotelial, en lo cual se forman granulomas compuestos por linfocitos y células epitelioides gigantes. (MARTÍNEZ, M et al. 2004. p. 12)

1.3. Brucelosis

Es una enfermedad infectocontagiosa, considerada la más difundida en el mundo por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en el 2008, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), perteneciente a la lista B de las enfermedades reportadas por la Oficina Internacional de Epizootias. (PAREDES, Sergio. 2012. p. 17) Esta enfermedad antropozoonótica es de origen animal, que puede contagiar a los individuos que los manipulan. (SBRIGLIO et al., 2007, p. 18)

1.3.1. Sinonimia

Brucelosis también denominada en los humanos como: fiebre malta, fiebre ondulante o del Mediterráneo; en los animales se conoce como: enfermedad de Bang, aborto contagioso y brucelosis melitococcica. (BARROS, Carlos. 2015, p.11)

1.3.2. Etiología

Referente a casos de brucelosis humana ya data desde los años 450 a. de C y se los atribuyen a Hipócrates; en la guerra de Crimea se observó numerosos casos de fiebres prolongadas, extendiéndose a países del Mediterráneo, en particular en la isla Malta. Marston luego de tres años realizó cuidadosos estudios clínicos incluido autopsias en los individuos, en la cual detalló la enfermedad y confirmó la presencia de la misma en otras zonas. (TELLO, O. et al. 2011. p.1)

El médico David Bruce en 1886 aisló e identificó la cepa de *Brucella mellitensis*, además de demostrar el alto grado de capacidad que tiene la bacteria para causar la enfermedad; así poco a poco fue apareciendo la zoonosis en Portugal, España; en sí la enfermedad del ganado bovino fue conocida a mediados del siglo XVIII, pero la incidencia de brucelosis humana aumento en las zonas mediterráneas a principios del siglo XX. (TELLO, O. et al. 2011. p. 1)

1.3.3. Clasificación

1.3.3.1. Brucelosis humana

Enfermedad bacteriana sistémica que al comienzo puede ser aguda y evolucionar hasta la cronicidad, que puede contraerse al humano. (NT No. 002 -MINS/DGSP-V.01. Norma técnica de diagnóstico y tratamiento de brucelosis humana)

La brucelosis humana tiene un extraordinario polimorfismo clínico, debido a que la bacteria presenta la capacidad de supervivencia intracelular, lo cual da tendencia a las recaídas e incluso evolucionar hasta la cronicidad. (MINSa. 2005. p. 8)

1.3.3.1.1. Síntomas

Las manifestaciones sistémicas de la brucelosis son las siguientes:

- Brucelosis aguda: Comprende desde el inicio de la sintomatología clínica y hasta alrededor de 3 meses de la evolución de la enfermedad.
- Brucelosis subaguda: La evolución es de tres meses hasta un año.
- Brucelosis crónica: Este término se refiere a pacientes cuya situación ya lleva un periodo de evolución de más de un año, acompañados de Títulos de seroaglutinación bajos. (NT No. 002 - MINSa/DGSP-V.01. *Norma técnica de diagnóstico y tratamiento de brucelosis humana*)

La sintomatología suele presentarse generalmente dos o tres semanas posteriores a la infección o incluso tardar más tiempo; lo más común es fiebre intermitente, sudor, escalofrío, cefalea, adelgazamiento, anorexia, fatiga, astenia, mialgias, artralgias y dolores generalizados. Los síntomas se asocian a un órgano en particular por tal razón la enfermedad se conoce como localizada o con alguna complicación. También suele producirse la infección de órganos como el hígado o el bazo. (WHO. 2008. p. 6)

Cuadro 1-1. Manifestaciones localizadas y complicaciones de la brucelosis

Complicaciones	Manifestaciones
Osteoarticulares	Artritis Espondilitis Sacroileítis Bursitis Osteomielitis Sinovitis
Genitourinarias	Glomerulonefritis Nefritis intersticial Orquitis Epididimitis Prostatitis Cistitis
Neurológicas	Meningitis Encefalitis Mielitis y neuritis Absceso cerebral Depresión y psicosis
Cardiovasculares	Endocarditis

	Pericarditis Miocarditis
Digestivas	Absceso hepático Hepatitis granulomatosa y difusa Colecistitis
Cutáneas	Eritema nodoso Vasculitis leucocitoclástica Exantema (macular,papular,etc.)
Pulmonares	Bronconeumonía Neumopatía intersticial Empiema Adenopatía hiliar Cavitación
Hematológicas	Coagulación intravascular Anemia Leucopenia Trombocitopenia Pancitopenia
Otras	Uveítis y tiroiditis

Fuente: VEGA, C et al. 2008

1.3.3.1.2. Modos de transmisión

En general la fuente común de contagio en personas es por el contacto con productos infectados de animales, ingestión de productos lácteos no pasteurizados, ingestión de carnes crudas sin la debida cocción; dentro de un laboratorio por aerosoles o debido al trato con cultivos, incluso algo más grave es infectarse accidentalmente por la vacuna atenuada de brucelosis. (GARCÍA, Z. 2007. p.4)

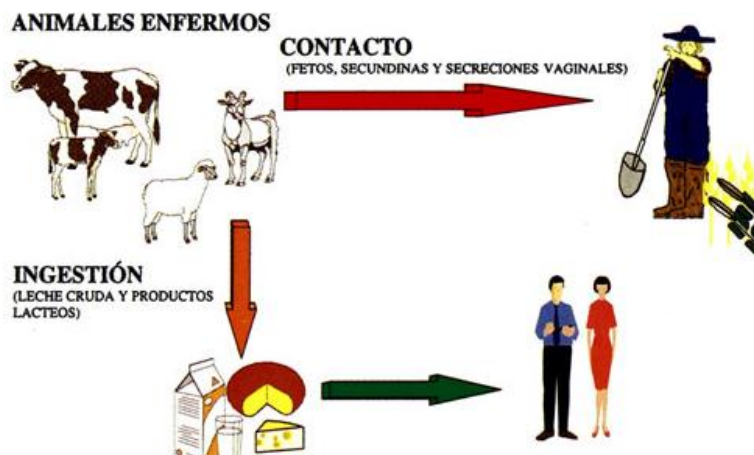


Figura 2-1. Mecanismos de transmisión de brucelosis

Fuente: Gobierno del Principado de Asturias, 2005

La transmisión entre seres humanos es casi no probable, solo en ciertas investigaciones se ha informado que puede llegar a pasar luego de una transfusión de sangre, trasplante de médula ósea o por contacto sexual; también se puede dar la posibilidad de que se contagie durante el parto de un bebe por medio de sangre, orina u heces de la madre infectada. (GARCÍA, Z. 2007. p.19). En efecto en la Tabla 5-1 da a conocer vías de transmisión.

Tabla 5-1. Mecanismos de transmisión de la infección

Vía de infección	Vía de entrada de la bacteria	Población en riesgo	Fuente de infección
Oral	Mucosa digestiva	Población en general	Leche cruda, derivados lácteos no pasteurizados
Respiratoria	Mucosa nasal	Personal de laboratorio, trabajadores de lana, personal de los establos	Aerosoles con muestras contaminadas en el laboratorio o establo, vacunas vivas
Parenteral	Inoculación accidental, transfusiones	Personal de laboratorio, veterinarios, población en general	Vacunas vivas, material biológico contaminado
Por contacto	Piel erosionado, conjuntiva	Personal en contacto con animales infectados o sus productos, personal de laboratorio	Producto de animales contaminados: placenta, heces, secreciones vaginales

Fuente: Castro et al., 2005

1.3.3.1.3. Tratamiento

Teniendo un diagnóstico temprano se puede aplicar un tratamiento oportuno para reducir complicaciones y evitar recaídas; el tratamiento consiste en el uso de antimicrobianos y la administración de medicamentos sintomáticos. (MSAL. 2013. p. 18)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) propone usar las combinaciones que contemplan dos opciones, estas incluyen doxiciclina por seis semanas combinada con estreptomycin durante dos o tres semanas o el uso de rifampicina por seis semanas. Otros antimicrobianos que también se pueden emplear en combinación con los medicamentos anteriores son: trimetoprima-sulfametoxazol o quinolonas. (MSAL. 2013. p. 19) A continuación se expone la siguiente Tabla 6-1 en la que se da a conocer algunos antibióticos a usar en el tratamiento de brucelosis.

Tabla 6-1. Principales antibióticos utilizados para el tratamiento de la brucelosis en seres humanos

ANTIBIÓTICO	
ADULTOS	<ul style="list-style-type: none"> - Doxiciclina 100mg/12h durante seis semanas <p>ASOCIACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> - Rifampicina 15 mg/kg/día (600-900mg/día) dividida en dos o tres tomas duante seis semanas - Estreptomycin 1g/día IM (750mg/día en pacientes >50años) durante 2 o 3 semanas

	<ul style="list-style-type: none"> - Gentamicina 5mg/kg IM en monodosis, durante dos semanas. <p>La más utilizada es Doxiciclina más Rifampicina</p> <p>Otras opciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tetraciclina 500mg/6h durante 6 semanas <p>ASOCIACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> - Rifampicina durante 6 semanas - Estreptomycinina durante 2 a 3 semanas
NIÑOS A PARTIR DE LOS 8 AÑOS	<ul style="list-style-type: none"> - Doxiciclina 2-4 mg/k/día vía oral (máximo 200mg/día) por seis semanas <p>ASOCIACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estreptomycinina 1g/día IM durante 2 semanas - Gentamicina 3-5mg/kg/día cada 8h IM o IV por una semana <p>Otras opciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Doxiciclina 2-4mg/k/día (máximo 200mg/día) vía oral durante 6 semanas + Rifampicina 15-20 mg/k/día cada 12h V.O. (máximo 600-900 mg/día durante seis semanas)
NIÑOS MENORES DE 8 AÑOS	<ul style="list-style-type: none"> - Cotrimoxazol (trimetropin + sulfametoxazol) 8-10 mg/k/día cada 12h V.O (máximo 480mg de trimetropina) durante 45 días + Rifampicina 15 a 20mg/k/día V.O (máximo: 600-900mg/día) durante 45 días
EMBARAZADAS Se debe realizar un análisis de riesgo-beneficio para definir la necesidad del tratamiento.	<ul style="list-style-type: none"> - Rifampicina 600 mg/día vía oral por seis en dosis sola o complementado con Cotrimoxazol 160/800 (Esta última SÓLO si la embarazada se encuentra entre la 13-36 semana de embarazo)

Fuente: MSAL. 2013

1.3.3.1.4. Patologías provocadas

En un 30 a 50 % de los casos se produce hepatomegalia y/o esplenomegalia y en un 12 al 20% se encuentra adenopatías; las manifestaciones focales se demuestran por infecciones supurativas de distintos órganos y sistemas. (MSAL. 2013. p. 9)

En los pacientes se observa de un 20 a 60 % la enfermedad osteoartricular presentándose como artritis periférica (afecta rodillas, caderas, tobillos y muñecas), sacroileítis y espondilitis. (MSAL. 2013. p. 9)

El segundo lugar en que se presenta brucelosis focal es en el sistema genitourinario observándose de un 2-20%; en el hombre se presenta orquitis o epididimitis y en las mujeres un riesgo de aborto espontaneo; además se puede presentar glomeulonefritis o nefritis intersticial. (MSAL. 2013. p. 9)

De un 5 – 7 % de los casos está enfocado al sistema nervioso central y lo más frecuente es meningoencefalitis de evolución aguda o subaguda, presentada con alteraciones del estado de conciencia, irritación meníngea, coma, abscesos cerebrales o síndromes desmielinizantes, convulsiones y depresión respiratoria. (MSAL. 2013. p. 9)

Otra afectación que se manifiesta es hepatitis granulomatosa y difusa con un elevado de transaminasas, pero rara vez se produce ictericia; también se presentan abscesos hepáticos y calcificaciones. (MSAL. 2013. p. 9)

La principal causa de mortalidad es por endocarditis, la más afectada es la válvula aórtica que se suele reemplazar quirúrgicamente. (MSAL. 2013. p. 10)

1.3.3.1.5. Serotipos para humanos

La especie *suis* de *Brucella*, posee una mayor diversidad de cepas que otras especies con una especificidad de huéspedes más amplia. Las que son de importancia patógena en humanos son las biovariedades 1,3 y 4; por lo que se recomienda que sus muestras deben obtenerse y manejarse con las debidas precauciones; es poco frecuente pero también zoonótica en humanos la biovariedad 2. En sí el serotipo que se transmite por contacto directo a los humanos mediante productos lácteos si pasteurizar es el biotipo 4. (Center Food Security Public Health, 2009, p. 1)

1.3.3.1.6. Morbilidad y mortalidad

La brucelosis es una enfermedad ocupacional que por lo general infecta a trabajadores de mataderos, veterinarios, agricultores, productores de ganadería y a personal de laboratorio. Los individuos que no manipulan algún animal infectado, tejido o cepas bacterianas se infectan ingiriendo productos lácteos no pasteurizados. (Center for food security public health, 2009, p. 4)

La incidencia informada en zonas endémicas varía de menos 0.01 a más de 200 casos por 100.000 individuos. En Estados Unidos la brucelosis es poco común se ha relatado que durante los últimos 10 años cada año hay aproximadamente 100 casos presentando esta infección. Rara vez es mortal si la enfermedad es tratada; en personas que no reciben tratamiento el índice de mortalidad varía entre 2 a 5%; la muerte generalmente se produce por endocarditis o meningitis. (SPICKLER, A. et al., 2011, p. 104)

Algunas infecciones humanas son asintomáticas o autolimitantes, su incidencia y severidad de la enfermedad varían con la especie de *Brucella*, por ejemplo en el ser humano se considera como más patógeno *B. mellitensis* aunque también la *B. abortus* y *B. suis* biovares 1,3 y 4 también son de importancia patógena. (Center for Food security and Public Health, 2009, p. 4)

Sin embargo estudios serológicos han relatado la presencia de anticuerpos de *B. canis* en un 13 % en pacientes del hospital de México, un 0.3% del suero obtenido en Alemania, de las poblaciones militares estadounidenses un 0.4%, de residentes de Florida 0.6% y el 68% residentes de Oklahoma. Los índices de morbilidad y mortalidad para brucelosis en mamíferos marítimos son desconocidos. (Center for Food security and Public Health, 2009, p. 4)

1.3.3.2. Brucelosis animal

Enfermedad infectocontagiosa transmitida por la bacteria *Brucella spp*, en Ecuador se encuentra difundida en un menor o mayor grado, en el país tiene una incidencia de entre 4-10%. (AGROCALIDAD. 2009. p. 44)

La brucelosis afecta a animales tales como bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, equinos, camélidos, canes, algunos rumiantes y mamíferos marinos. La brucelosis del ganado bovino, ovino, caprino y porcino son enfermedades que figuran en el Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal por lo que son notificadas de una manera obligatoria. (OIE, 2015, p.1)

Con respecto a su epidemiología, se observa que en Ecuador la brucelosis bovina se encuentra ampliamente difundida, de acuerdo a los distintos sistemas de producción existentes. En la tabla 7.1 se observa el diagnóstico de brucelosis en Ecuador. (ORTIZ, 2016, p. 21)

Tabla 7-1. Diagnóstico de brucelosis bovina en Ecuador

Año	Convenio	Número de muestras	Positivos	Negativos	% de prevalencia
1979	SESA	15.473	495	14.798	6.00
2004	AHFE	5.267	274	4.903	5.20
2005	AHFE	3.429	202	3.227	5.89
2006	AHFE	14.743	406	14.337	2.75
2007	AHFE	24.734	582	24.152	2.35
	P. QUITO	3.816	148	3.668	3.88
	SESA	19.921	14	19.907	0.07
2008	AHFE	49.205	759	48.446	1.54
2009	AHFE				
	P. QUITO AGROCALIDAD	3000	30	2.970	1.0
TOTAL		139.588	2.910	136.678	3.30

Fuente: (Ortiz, 2016)

1.3.3.2.1. Síntomas

En los bovinos se aprecia orquitis unilateral o bilateral con presencia de abscesos, inflamación del epidídimo y órganos accesorios reproductivos; en las hembras infectadas por lo general no se observan los signos clínicos hasta que abortan; la infección de la ubre es común e intermitente, esta bacteria además asiste en las articulaciones provocando artritis. (HEREDIA, C. 2014, p.1)

En los equinos se produce una inflamación de cuello o lomo denominado Cruz fistulosa y en las yeguas que estén preñadas pueden causar aborto o parir un potro débil y vulnerable.

Además se mencionan otros signos como disminución de rendimiento reproductivo, por razones de aborto, infertilidad, retención placentaria, mortalidad neonatal o debilidad de la progenie. Todo esto conlleva a pérdidas económicas considerables para los productores de ganado lechero. (OIE, 2015, p. 3)

1.3.3.2.2. Modos de transmisión

La gran mayoría de especies de *Brucella* (*B. abortus*, *B. mellitensis*, *B. suis*, *B. canis*) pueden transmitirse por contacto directo entre animales ya sea por el material infectado como placenta, líquidos fetales, descargas vaginales, semen, secreciones y excreciones, e incluso luego de un aborto o parto a término los animales eliminan esta bacteria en el caso de que estén infectados; y es ahí donde los huéspedes se infectan accidentalmente después de su contacto. (Center for Food security and Public Health, 2009, p. 2)

1.3.3.2.3. Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones que se encuentran en las hembras es el aborto, infertilidad, retención placentaria, nacimiento de crías débiles o muertas, metritis y disminución de la producción láctea. En cambio en los machos se produce infertilidad, epididimitis, orquitis y dermatitis escrotal. También se observa hepato y esplenomegalia, artritis, discoespondilitis, uveítis anterior, decaimiento y anorexia en periodos de bacteriemia. En equinos ocurren inflamaciones y abscesos en la altura de la nuca. (MS. 2013. p.7)

1.3.3.2.4. Serotipos para animales

La *Brucella suis* es la que más afecta a los animales debido a que tiene 5 biovariedades de las cuales el biotipo 1, 2, 3 infectan a los cerdos, la biovariedad 2 en cambio a liebres y a los jabalíes en toda Europa. (Center for food security public health, 2009, p. 1)

El biotipo 4 se limita a regiones árticas de América del Norte y Rusia afectando principalmente a renos y caribúes, pero ésta no se encuentra en cerdos a pesar de estar estrechamente relacionada con la biovariedad 1 desde el punto genético. En roedores aparece la biovariedad 5 que se encuentra en la ex Unión Soviética y se diferencia de otros biotipos de *B. suis*, aunque este íntimamente relacionado con cepas de *Brucella* de mamíferos marinos.

En fin se encuentran en todo el mundo los biotipos 1 y 3 mientras que las otras biovariedades son limitadas a una distribución geográfica. (Center for food security public health, 2009, p. 1)

1.4. Formas de identificación en el laboratorio

En el laboratorio se realiza los siguientes procedimientos:

Métodos Directos

Se basa en el aislamiento de la bacteria a partir de hemocultivos, evidenciando la presencia de la misma en los tejidos del ser infectado. Los métodos directos que se nombran son:

- **Cultivo:** La técnica de Ruiz Castañeda era la más empleada, consiste en la inoculación de sangre en frascos herméticamente sellados que a su vez contienen un medio líquido caldo triptosa y un medio sólido agar triptosa por 30 días, debido a su crecimiento lento; (MONTES, p. 2) actualmente existen hemocultivos automáticos uno de ellos es el sistema Bactec, el cual detectan más del 95% de los cultivos antes del séptimo día de incubación.

En los hemocultivos disminuye la probabilidad de una respuesta confiable según avance la enfermedad por lo que el aislamiento se realiza de ganglios linfáticos, hígado o bazo. (CASTRO et al., 2005. p. 208)

- **Examen microscópico:** Cuando se observe o se detecte un posible crecimiento, basta con una simple tinción Gram se puede hacer el diagnóstico presuntivo de la infección. La bacteria presenta unas características tintoriales especiales, no sufre decoloración con ácidos débiles; además la tinción es algo peculiar debido a que si el tiempo de exposición al alcohol-acetona es muy breve presenta una decoloración irregular, observándose la coexistencia de pequeños cocobacilos gramnegativos y grampositivos en la muestra.
- **Reacción en cadena de la polimerasa:** Debido a la extrema sensibilidad que presenta la detección de ADN bacteriano mediante PCR en las muestras estudiadas es posible que en los próximos años se dé con certeza un diagnóstico preciso de la enfermedad. (MONTES, p. 2)

Además existen varios métodos a emplear para observar la presencia de antígenos de *Brucella*: Método de ELISA, inmunofluorescencia directa, hemaglutinación reversa, subcultivo y aspecto colonial y la técnica que diagnostica brucelosis humana PCR-ELISA. (CASTRO et al., 2005. p. 208)

Métodos Indirectos

Son los más empleados y numerosos que tienen como fin detectar no sólo el mayor número de individuos infectados sino también diferenciar entre vacunados e infectados y al mismo tiempo detectar reacciones cruzadas. (CASTRO et al., 2005. p. 208)

Se utiliza suspensiones de *Brucella* en fase S o R para la mayor cantidad de pruebas de laboratorio según sea la cepa bacteriana; los organismos internacionales recomiendan cepas de *B. abortus* 1119-3 o 99S para detectar anticuerpos anti *B. abortus*, *suis* y *melitensis* mientras que para anticuerpos anti *B. canis* y *B. ovis* se utilizan antígenos determinados de la especie misma. (CASTRO et al., 2005. p. 208)

Las pruebas serológicas son las más utilizadas por su rapidez y sensibilidad e indican las titulaciones de anticuerpos específicos que se encuentran en cada individuo. (MONTES, p. 2)

Para el diagnóstico se utilizan las siguientes pruebas serológicas:

- **Rosa de Bengala:** Utiliza como antígeno una suspensión bacteriana, que en pocos minutos facilita una aproximación diagnóstica con una alta sensibilidad y especificidad. Por su simplicidad es muy útil como prueba inicial o screening, sus falsos negativos se limitan a individuos enfermos en pocos días de evolución de la enfermedad. (MONTES, p. 2)
- **Seroglutinación en tubo o placa con pocillos:** El antígeno reacciona frente a anticuerpos de *B. abortus* como también con *B. melitensis* y *B. suis*; especies responsables en el caso de brucelosis; el título considerado como positivo es de 1/160, en un país endémico como España, no siendo raros los títulos de 1/640 en fase inicial de la enfermedad. Debido a que los anticuerpos responsables de la seroaglutinación son los de la clase IgM, lo normal es que se vaya descendiendo en el transcurso de 3-6 meses, con o sin curación de la enfermedad. (MONTES, p. 2)
- **Prueba de Coombs:** De gran importancia para el diagnóstico de brucelosis crónica, se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, en especial IgG. Además se cita como posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* y *Yersinia enterocolitica* 09, patógenos raros en nuestro país. (MONTES, p. 3)
- **Seroaglutinación tras tratamiento del suero con 2-mercaptoetanol:** Es una prueba selectiva que detecta la presencia de anticuerpos IgG, degradando a los de la clase IgM debido a la acción de compuestos que tiene el radical tiol como el 2-mercaptoetanol. La validación de los resultados es teniendo en cuenta los sueros controles. (NT No. 002-MINSA/DGSP-V.01. Norma técnica de diagnóstico y tratamiento de brucelosis humana)
- **Enzimoinmunoanálisis:** Se detecta la presencia de los anticuerpos específicos que se seleccionen IgG, IgM, o IgA, con unos valores excelentes de sensibilidad y especificidad. (MONTES, p. 4)

- **Inmunofluorescencia indirecta y fijación del complemento:** No suele utilizarse debido a que presenta mayor complejidad sin aportar otra información a las técnicas anteriores. (MONTES, p. 4)

1.5. Programas de control, prevención y erradicación de Brucelosis

En Ecuador existe el Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina el cual nació como una propuesta de la Autoridad Sanitaria Nacional (AGROCALIDAD) presentando como objetivo universal: Lograr la disminución progresiva de bovinos infectados de brucelosis bovina, en las cinco regiones epidemiológicas del país. (AGROCALIDAD. 2009. p. 48)

Para lograr cumplir lo planteado se consideran los componentes operativos mencionados:

- Sensibilización, promoción y difusión del Programa
- Vigilancia epidemiológica
- Diagnóstico e identificación de animales positivos
- Vacunación de terneras
- Certificación de predios libres de brucelosis (AGROCALIDAD. 2009. p. 8)

“La Autoridad Sanitaria Animal determinó que el proyecto “Plan Estratégico 2010-2014” dé su etapa final, como fin tiene la erradicación de la brucelosis bovina en el año 2014, para lo cual cuenta con tres líneas de acción: vigilancia, saneamiento y eliminación de la infección; además de la prevención de la transmisión.” (MARTÍNEZ, P. 2013. p. 655)

Se manifiesta que la Brucelosis bovina puede controlarse con un programa eficaz de vacunación, o lograr erradicarse mediante programas de prueba y sacrificio; pero el principal elemento es la vacunación contra brucelosis en conjunto con medidas y estrategias sanitarias. Las vacunas utilizadas son elaboradas con bacterias vivas debido a que la *Brucella* es una bacteria intracelular facultativa; la inmunidad importante que debe generar no es la presencia de anticuerpos, sino la inmunidad medida por células. (ESCOBAR, F. 2011. p. 66)

En el año 2009 se inició la vacunación contra brucelosis bovina en la que se aplicaron 210.000 dosis donadas por el Gobierno, su aplicación fue a todas las terneras que presenten entre 3-9 meses de edad, una sola vez en su vida. (UNIVERSO, 2009)

El Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina presenta como estrategias de Prevención y Control:

1. En las regiones Sierra Norte y Costa que son las de alta prevalencia se aplican estrategias que orientan a la creación de una sólida inmunidad poblacional mediante la ejecución de campañas de vacunación contra brucelosis, acciones de vigilancia epidemiológica en animales reactivos positivos, eliminación obligatoria de los mismos en matanzas sanitarias y actividades de educación sanitaria.
2. En la región de baja prevalencia Andina Sur se ejecutan campañas de vacunación contra brucelosis, diagnóstico de los animales reactivos positivos, control sanitario de ingreso y egreso de animales y educación sanitaria.
3. En la región Amazónica se ejecutan encuestas sero-epidemiológica para conocer prevalencia de brucelosis bovina y establecer a su vez estrategias de control. Y de acuerdo a los resultados se aplican las actividades antes mencionadas.
4. En la región Insular se realizan encuestas sero-epidemiológica para justificar científicamente la condición de libre brucelosis bovina.
5. A nivel nacional se realizó la Certificación de Fincas Libre de Brucelosis Bovina.
6. Vacunación con la cepa 19 en terneras nacidas en la propiedad.
7. Vigilancia epidemiológica se basará en el diagnóstico mediante pruebas de Ring-Test en leche y de aglutinación en suero sanguíneo (Rosa de Bengala) y como prueba confirmatoria ELISA competitivo.
8. Eliminación de vacas en reactivos positivos, para luego ser destinados a sacrificio sanitario en camales autorizados por AGROCALIDAD.

La prevención de la brucelosis humana se basa primero en la detección de animales enfermos para dar un sacrificio y en caso de los animales sanos una debida vacunación; además existen otras medidas complementarias que están dirigidas al saneamiento de los productos de origen animal mediante una higienización de leches, quesos, productos lácteos, etc. En los últimos ensayos se están aspirando conseguir vacunas compuestas por fracciones antigénicas, para su aplicación en personas con elevado riesgo profesional. (Micro Madrid)

1.6. Método Delphi

Método creado en 1948 para la obtención de opiniones de personas expertas de una forma sistémica; exponen sus opiniones sin que exista una reunión en un lugar determinado, de tal manera que no existe discusiones ni mucho menos confrontaciones entre los expertos. (CORRAL, Y. 2009. pp. 233-234)

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

Para el estudio: Detección de anticuerpos contra *Brucella spp.*, en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de Zootecnia, ESPOCH primero se solicitó al Director de la Escuela de Ingeniería Zootécnica mediante un oficio la autorización respectiva para la realización del Trabajo de investigación, al mismo que se adjuntó un Resumen ejecutivo que da a conocer el objetivo del estudio; además se estipuló un cronograma de actividades para la ejecución del mismo.

Se obtuvo una aceptación por parte del Director de Escuela de Ingeniería Zootécnica, la cual fue muy favorable ante la solicitud mencionada. Realizando la invitación a sus estudiantes, para que de manera voluntaria se acercaran a la toma de muestras.

Se requirió la autorización para el uso del Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias, ESPOCH para el desarrollo del trabajo de Titulación.

Selección de muestra:

La población de estudio para el presente trabajo representó los 471 estudiantes matriculados dentro de la Escuela de Ingeniería Zootécnica, ESPOCH.

Unidad de análisis:

Como la unidad de análisis fueron los sueros sanguíneos de los estudiantes.

Tamaño de Muestra:

Para el presente trabajo se utilizó la tabla del método Militar Stándar 105 D para conocer el tamaño de muestra, complementado con estudiantes que accedieron de manera favorable al trabajo de investigación, el cual formó un total de 106 estudiantes.

Tipo y Diseño de Investigación:

El tipo de investigación en el presente estudio tuvo un enfoque semicuantitativo debido a que los datos alcanzados fueron observables y además se realizaron comparación con otros estudios previos, su alcance fue explicativo porque analiza la presunta relación entre un factor y su efecto; además acotamos que según la proyección fue un trabajo prospectivo porque se obtuvieron resultados a medida que se va desarrollando el estudio; de tipo transversal ya que no se efectuó seguimiento a los estudiantes y según el control de la variable el estudio fue observacional porque no manipulamos la variable.

2.1. Lugar de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los sueros sanguíneos de los estudiantes que firmaron su conocimiento informado perteneciente a la Escuela de Ingeniería Zootécnica, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

Los análisis y reportes se llevaron a cabo en el laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias ESPOCH.

2.2. Materiales, Equipos y Reactivos

- Encuesta de datos epidemiológicos (ANEXO A): La presente estuvo formulada con un total 12 preguntas entre abiertas y cerradas. A través de la misma se obtuvo información requerida de los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica sobre su relación a la patología.
- Consentimiento informado del estudio (ANEXO B): Con esta solicitud se respeta los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki, la participación de los sujetos por voluntad propia que acuden a la toma de muestra debe recibir información adecuada acerca de los objetivos pertinentes de la investigación antes de ser firmada la solicitud.
- Reporte de resultados (ANEXO C)

2.2.1. Materiales y equipos

- Tubos de ensayo tapa roja sin anticoagulante Vacutainer
- Cápsula de Vacutainer
- Aguja para vacutainer 21G
- Torniquete
- Guantes de latex
- Cure Band Redondas
- Torundas
- Tubos eppendorf

- Marcador
- Toallas absorbentes
- Centrífuga
- Micropipetas
- Placas de vidrio
- Refrigerador
- Cámara de flujo laminar
- Unidad de lectura para aglutinación
- Estufa

2.2.2. *Reactivos*

- Sueros sanguíneos
- Alcohol antiséptico 70 G L
- Rosa de Bengala Antígeno Brucelar Amortiguado MICSA S.A.
- Diluyente para suero 2-mercaptoeanol (MERCAPTIN)
- Antígeno para *Brucella* (MERCAPTIN)

2.3. Técnicas y Métodos

2.3.1. *Técnica de toma de muestras*

Se tomó aproximadamente 10 cc de sangre en tubos tapa roja sin anticoagulante vacutainer mediante punción venosa en cualquiera de las tres venas: cefálica, media o basílica; realizando una observación clara de la vena se introdujo la aguja en un ángulo aproximado de 45° y con el bisel hacia arriba, luego que se extrajo la sangre fijamos un algodón en el sitio de punción y se desechó la aguja en cortopunzantes.

2.3.2. *Procesamiento de las muestras*

La sangre se procedió a centrifugar a 3000 RPM durante cinco minutos, luego se separó el suero en tubos eppendorf previamente rotulados para su análisis.

Los sueros y reactivos a emplear deben alcanzar la temperatura ambiente antes de empezar a desarrollar la prueba.

2.3.2.1. *Prueba rápida en placa con antígeno Rosa de Bengala*

Los anticuerpos aglutinantes se pueden demostrar por esta prueba, la finalidad de la misma es la obtención de resultados confiables y reproducibles.

1. Se usó una placa de vidrio limpia, desengrasada, cuadriculada.
2. Se realizó un control positivo y uno negativo
3. Se colocó en el primer cuadro 40 μ L de suero sanguíneo y 40 μ L de antígeno
4. Se homogenizó con un aplicador y se agitó la placa con movimientos rotatorios por el cabo de cuatro minutos.
5. Se observó en una unidad de lectura para aglutinación.

2.3.2.2. *Aglutinación lenta en presencia de 2-mercaptoetanol*

La siguiente técnica identifica anticuerpos de la clase IgG principalmente, debido a que los de la clase IgM se inactivan con el 2-Mercaptoetanol.

1. Se rotuló los eppendorf con la letra H₁-H₁₉ (Muestras) y H₂₀-H₂₁ (Control positivo y negativo respectivamente); para la dilución se etiquetó con la letra G.
2. Se colocó 180 μ L de solución salina 2- Mercaptoetanol en los eppendorf de la columna H y 100 μ L en el resto de los eppendorf.
3. Se agregó 20 μ L de cada una de las muestras (Suero) de la siguiente manera:

H ₁ al H ₁₉	Muestra problema
H ₂₀	Control positivo
H ₂₁	Control negativo
4. Se realizó 1 dilución de la siguiente manera:
 - 4.1. Se mezcló el suero subiendo y bajando 3 veces con la micropipeta
 - 4.2. Se tomó 100 μ L del eppendorf H al G
 - 4.3. Se mezcló y se descartaron 100 μ L para igualar el volumen.
5. Se colocó 100 μ L del antígeno diluido 1:10 a todos los eppendorf; se cubrió cada uno de ellos y se incubó a 37° C por un lapso de 24 h.

6. Se dio lectura de cada uno de los eppendorf frente de una luz para facilitar la observación de la reacción.

Además al estudio se acotó realizando un análisis en leches crudas de los mercados del cantón Riobamba; para conocer si existía o no casos *Brucella spp.* en leches no pasteurizadas.

2.3.2.3. Prueba de Anillo en Leche

Es utilizada para determinar anticuerpos contra *Brucella* en la leche de vaca.

1. Se adquirió una muestra de leche por los mercados Santa Rosa, Condamine, San Alfonso
2. Se refrigeró las leches por dos horas para separar su grasa
3. Se tomó un mililitro de leche homogenizada y se colocó en un tubo de ensaye de 5 mL
4. Se añadió 0.03 mL del antígeno para anillo en leche
5. Se homogenizó y se incubó a 37° C durante una hora.
6. Se observó la superficie de la leche para dar un resultado.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados de la encuesta

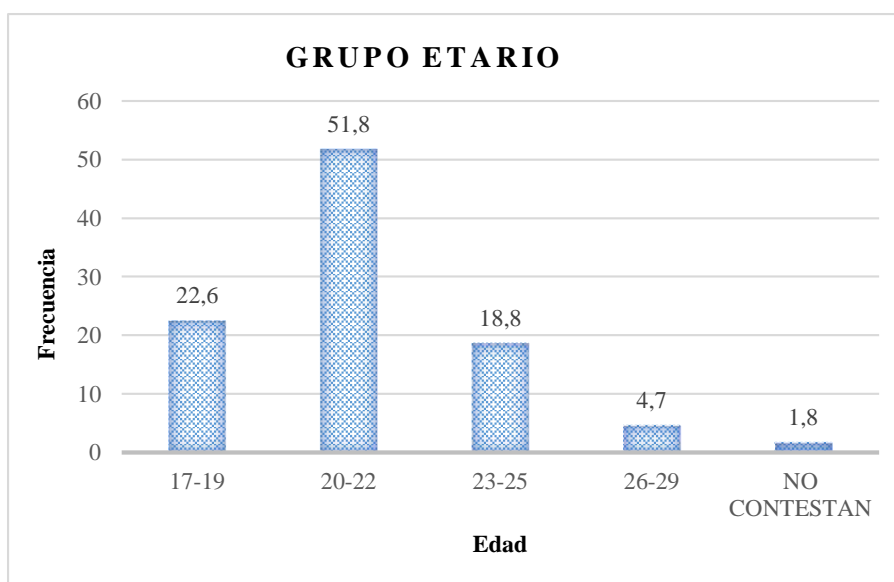
La población de estudio fue los 106 estudiantes de la Escuela de Ingeniería Zootécnica de un total de 471, esto se logró a través de la invitación realizada por parte del señor Director de la Escuela de Zootecnia presto a nuestra solicitud, considerando un 95% de confiabilidad y el 5% de error, de allí que los resultados están expresados sobre el número de encuestas.

Se elaboró y validó la encuesta para que sea aplicada a los 106 estudiantes de la Escuela de Zootecnia y conocer cuan propenso están frente a *Brucella spp.* Obteniendo los siguientes datos epidemiológicos:

Tabla 1-3. Estadístico del Grupo etario

N°	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
104	17	29	21,16	2,410

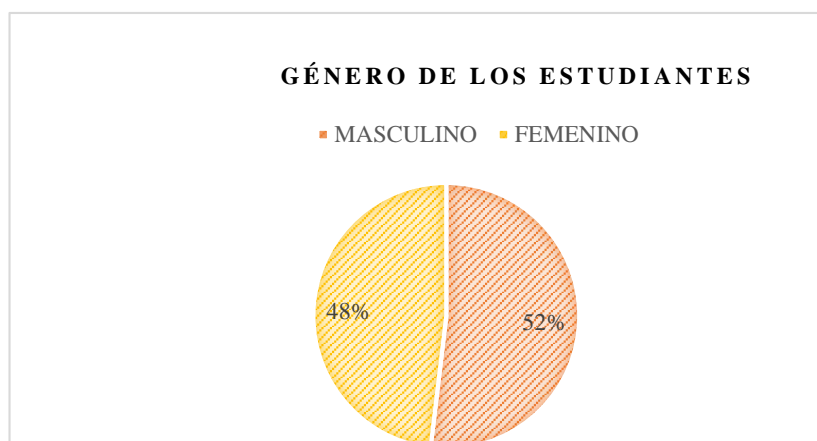
Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 1-3. Grupo etario que acudieron a realizarse la toma de muestras

Realizado por: Brenda Pinargote

La edad media de los estudiantes que acudieron a realizarse la toma de muestra para detección de *Brucella spp.* es de 21 años promedio, el cual se ve representado en el Gráfico 1-3; con un porcentaje de 51.8%; también se evidencia un estadístico de la edad en la Tabla 1-3. Esta zoonosis generalmente se presenta en adultos mayores de 30 años y por lo general es rara en niños. (CARRILLO et al. 1997. p. 1)



Gráficos 2-3. Género de los estudiantes que acudieron a la toma de muestras

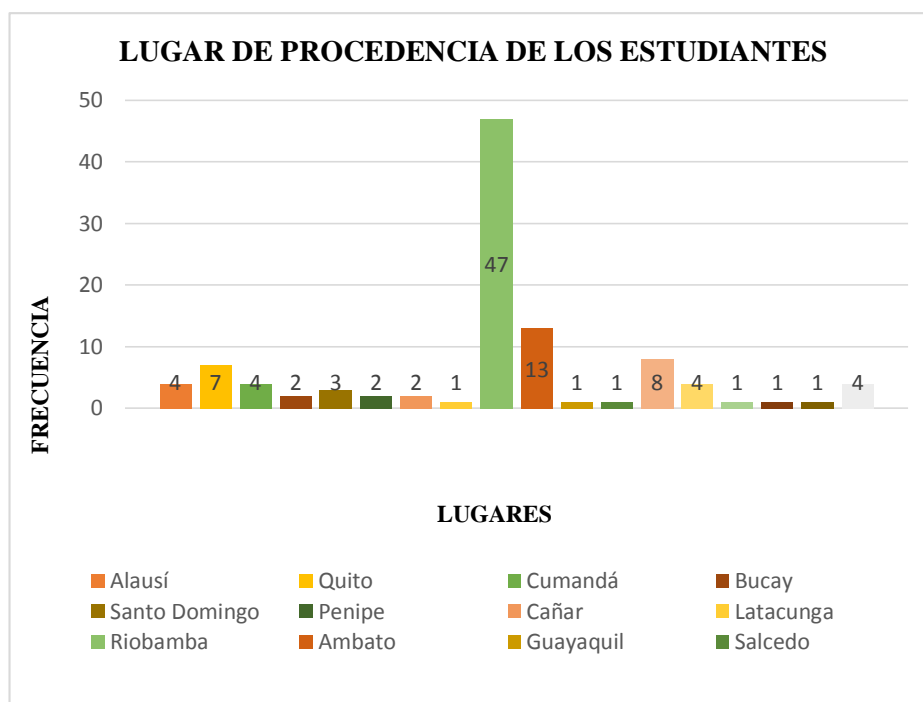
Realizado por: Brenda Pinargote

En el Gráfico 2-3 se pudo observar que el género masculino (52%) predominó sobre el femenino (48%) lo que indica que existe una alto índice de hombres estudiando Ingeniería Zootécnica, debido en sí a las características que presenta la Carrera.

Tabla 2-3. Lugar de procedencia de los estudiantes

Lugar de procedencia	Frecuencia en numero	Frecuencia en porcentaje
Chimborazo	59	55.7%
Bolívar	4	3.7%
Guayas	3	2.8%
Santo Domingo	3	2.8%
Pichincha	7	6.6%
Tungurahua	13	12.3%
Cañar	3	2.8%
Cotopaxi	2	1.9%
Orellana	8	7.5%
NO CONTESTAN	4	3.7%

Realizado por: Brenda Pinargote 2016



Gráficos 3-3. Lugar de procedencia de los estudiantes

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016

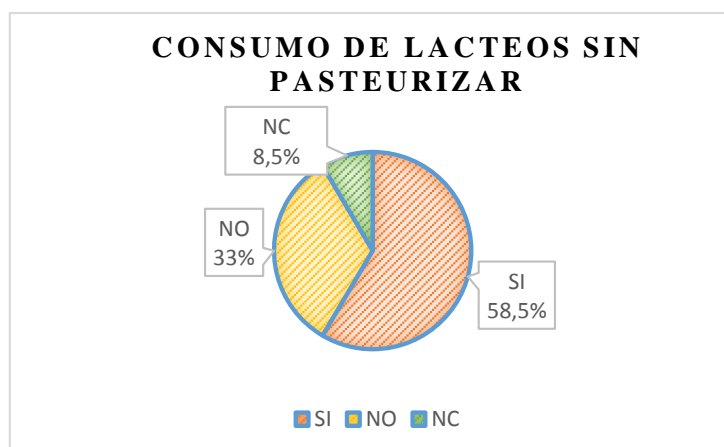
Respecto a la procedencia de cada uno de los estudiantes, se evidenció que la población es muy diversificada geográficamente. Demostrando en la Tabla 2-3 a la provincia de Chimborazo como una de las más habitadas por los estudiantes, con un porcentaje de: 55.7%.

En cambio en el Gráfico 3-3 se evidencia la frecuencia de los cantones en los que habitan los estudiantes, siendo Riobamba el lugar de procedencia mayor habitado con un número de 47 (44.4%) estudiantes y los demás cantones con una minoría tal cual se observa en el gráfico, además se presenta que 4 de ellos no contesta la pregunta; esta variable es clave para la investigación ya que se conoce cuál es la zona que se considera como área endémica.

Tabla. 3-3. Consumo de lácteos sin pasteurizar

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Si	62	57,4	58,5
No	35	32,4	33,0
No contestan	9	8,3	8,5
Total	106	98,1	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 4-3. Consumo de lácteos sin pasteurizar

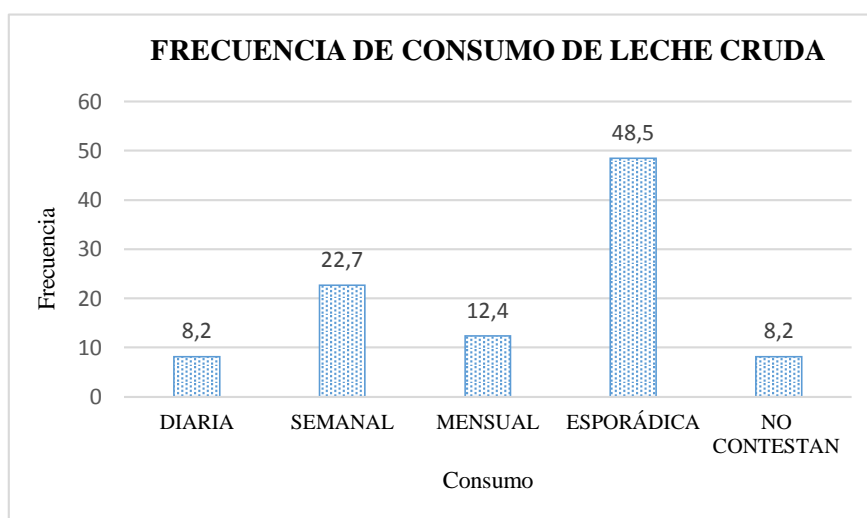
Realizado por: Brenda Pinargote

Otra variable que se considero es el consumo de lácteos sin pasteurizar el cual el 58,5% dijeron que si consumen, el 33% dio una respuesta contraria y sin ninguna respuesta el 8,5% como se observa en el gráfico 4-3; en este aspecto cabe recalcar que los estudiantes desconocían del termino pasteurizado por tal motivo de ese porcentaje respectivamente. Se destaca que los productos lácteos sin pasteurizar también son un factor muy importante de adquirir la infección por lo que existen estudios en el que afirman que una de las principales causas de adquirir *Brucella* es por leche cruda y sus derivados sin la debida cocción (Novoa, D. 1976) En Ecuador la tendencia de lácteos es creciente, su consumo incrementa alrededor de 100 litros anuales. (PRO-ECUADOR. 2014. p. 1)

Tabla 4-3. Frecuencia de consumo de leche sin pasteurizar

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Diaria	8	7,4	8,2
Semanal	22	20,4	22,7
Mensual	12	11,1	12,4
Esporádica	47	43,5	48,5
No contestan	8	7,4	8,2
Total	97	89,8	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 5-3. Frecuencia de consumo de leche cruda

Realizado por: Brenda Pinargote

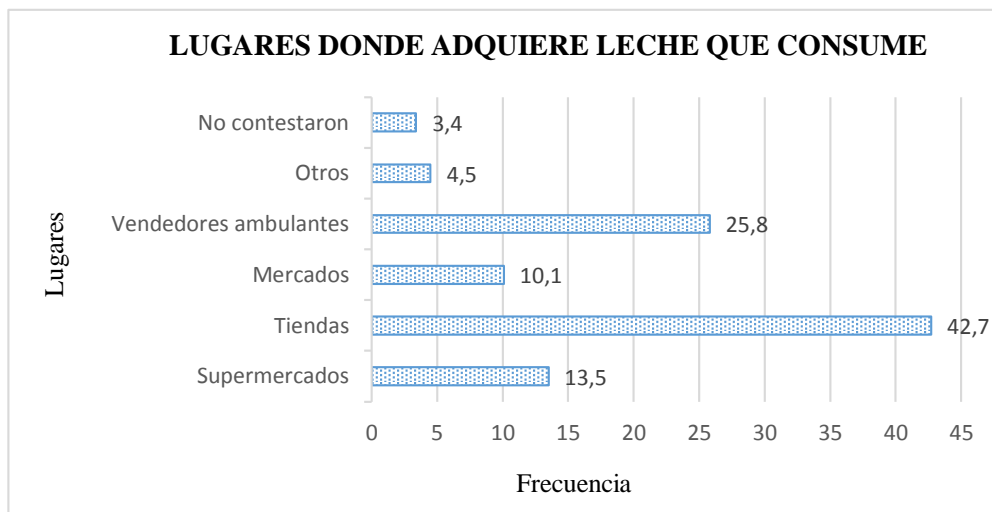
La frecuencia del consumo de leche cruda es esporádicamente evidenciando un porcentaje del 48,5%, esto indica que las personas ya no están consumiendo la leche directamente del animal sino que adquiere leche en funda ya pasteurizada, debido al fácil accesos que tienen de comprarla en tiendas cercanas, en la tabla 4-3 se evidencia el porcentaje de consumo de acuerdo a la frecuencia; cabe recalcar que no existe evidencia de cuál es el consumo de leche cruda en algún organismo de control del cantón Riobamba.

Este punto es muy importante porque mediante la norma INEN 009 (2008): se conoce que “una leche cruda es aquella que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, además de no ser apta para el consumo cuando es obtenida de animales cansados, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.” (NTE INEN 0009 (2008) (Spanish): Leche cruda. Requisitos)

Tabla. 5-3. Lugar donde adquiere leche que consume

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Supermercados	12	11,1	13,5
Tiendas	38	35,2	42,7
Mercados	9	8,3	10,1
Vendedores ambulantes	23	21,3	25,8
Otros	4	3,7	4,5
No contestaron	3	2,8	3,4
Total	89	82,4	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 6-3. Lugar donde adquiere leche que consume

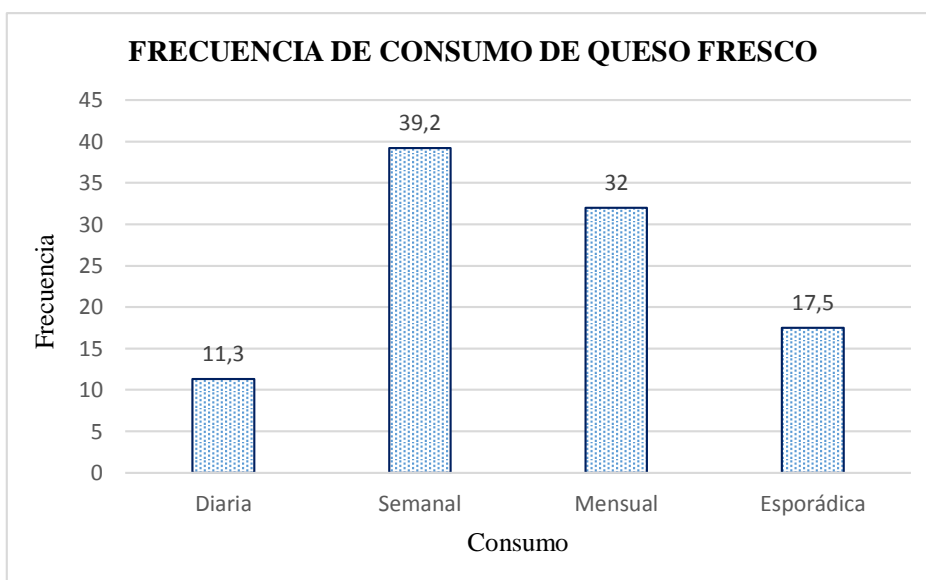
Realizado por: Brenda Pinargote

Según el Gráfico 6-3 el lugar donde los estudiantes adquieren la leche que consumen es en las tiendas con un porcentaje de 42,7%, debido al fácil acceso que tienen a este lugar, seguido también de los vendedores ambulantes con un 25,8% y cabe mencionar que el 3,4% no contestaron a esta pregunta.

Tabla 6-3. Frecuencia de consumo de queso fresco

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Diaria	11	10,2	11,3
Semanal	38	35,2	39,2
Mensual	31	28,7	32,0
Esporádica	17	15,7	17,5
Total	97	89,8	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 7-3. Frecuencia del consumo de queso fresco

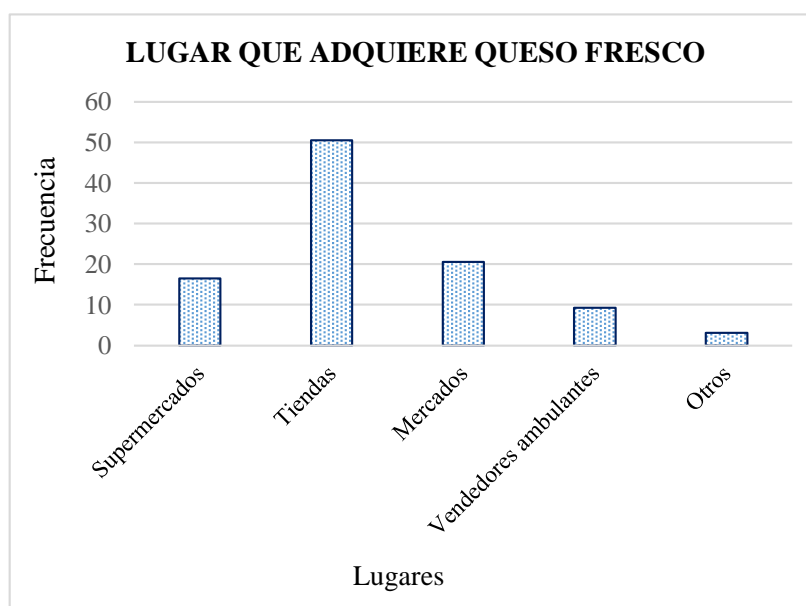
Realizado por: Brenda Pinargote

Con respecto a la frecuencia de consumo de queso fresco se evidencia en la Tabla 6-3 que los estudiantes consumen semanalmente en un 39,2%; debido que es un alimento de rápido consumo, seguido del 32% de estudiantes que lo realizan mensualmente, mientras que el 17.5% es de manera esporádica y el 11.3% lo consumen diariamente. Además se menciona que mundialmente se incrementara en un 15 % el consumo de queso. (PRO-ECUADOR. 2014. p. 1)

Tabla 7-3. Lugar donde adquiere queso fresco

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Supermercados	16	14,8	16,5
Tiendas	49	45,4	50,5
Mercados	20	18,5	20,6
Vendedores ambulantes	9	8,3	9,3
Otros	3	2,8	3,1
Total	97	89,8	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016

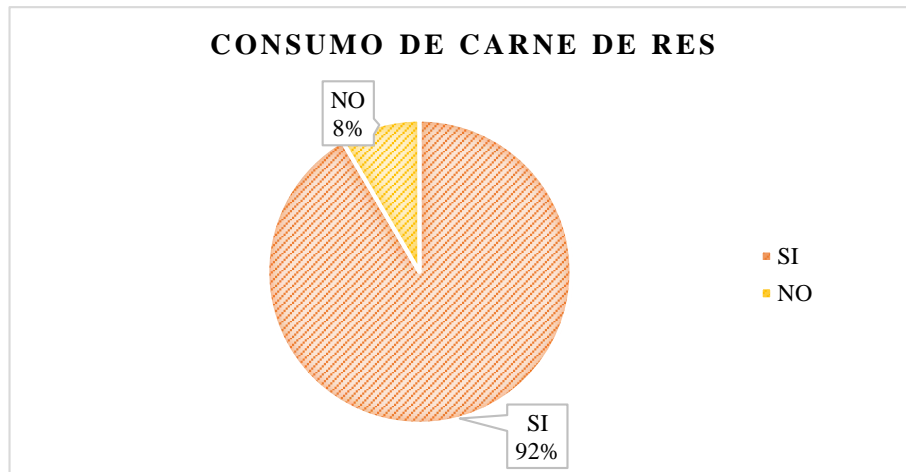


Gráficos 8-3. Lugar donde adquiere queso fresco

Realizado por: Brenda Pinargote

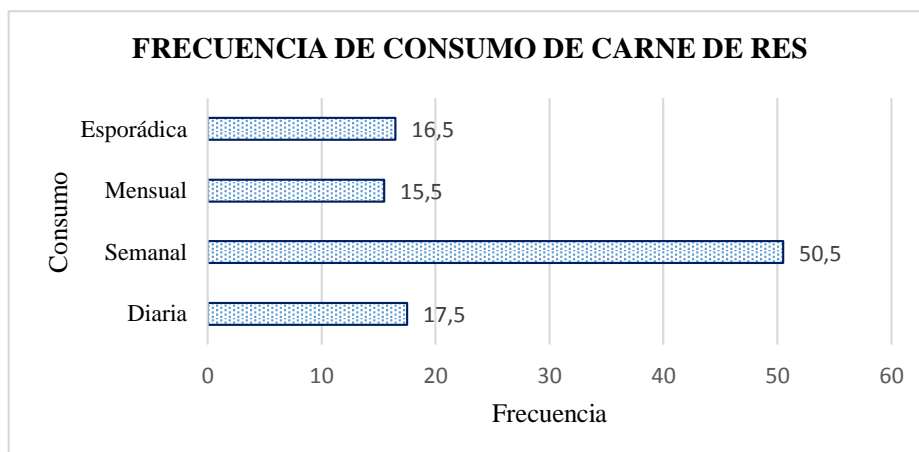
En el Tabla 7-3 se evidencia que el queso fresco se adquiere en un lugar de fácil acceso para los estudiantes, en este caso las tiendas representado por 50,5% por lo que es posible que sea adquirido directamente de una leche con su debida pasteurización; también se acota que el 3% de los estudiantes consumen queso fresco proveniente de otros lugares como por ejemplo de fincas.

Con respecto a la carne de res:



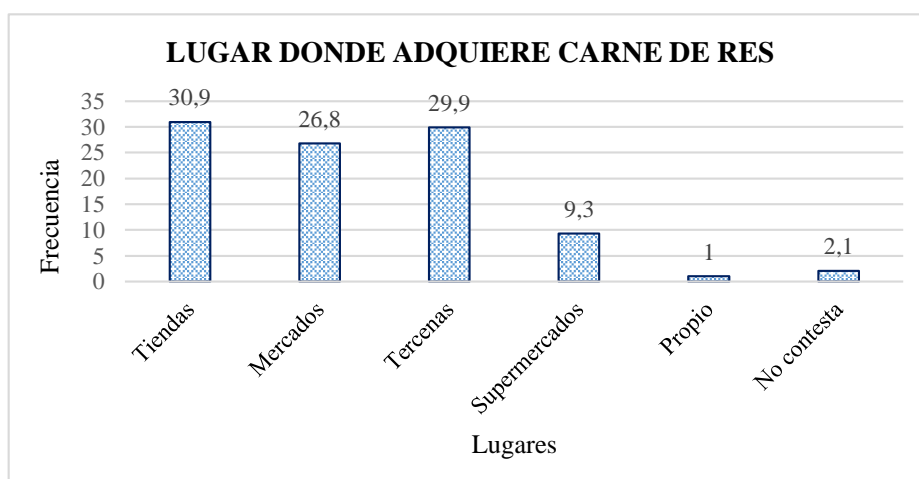
Gráficos 9-3. Consumo de carne de res

Realizado por: Brenda Pinargote



Gráficos 10-3. Frecuencia de consumo de carne de res

Realizado por: Brenda Pinargote



Gráficos 11-3. Lugar donde adquiere carne de res

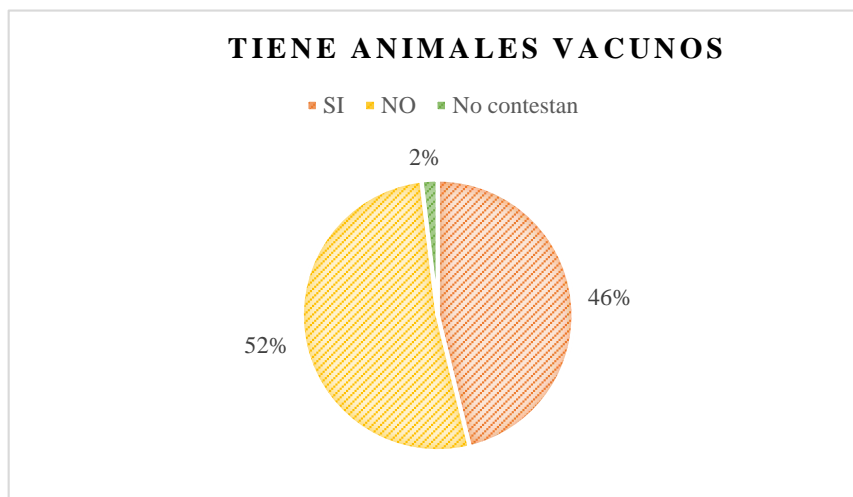
Realizado por: Brenda Pinargote

Al relacionar el consumo, la frecuencia y el lugar donde se adquiere la carne de res según los gráficos anteriores se evidencia que el 92% de los estudiantes consumen carne de res representado en el Gráfico 9-3; sin embargo la frecuencia de consumo es semanalmente con un porcentaje estimado de: 50,5% según el Gráfico 10-3 y el lugar donde adquieren el producto es en las tiendas con un 30,9% como se evidencia en el Gráfico 11-3 seguido de las tercenas con un valor de 29,9%. El consumo de carne bovina anual es alrededor de 17Kg per cápita según datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador en el año 2008. (BARZOLA S. 2013. p. 37)

Tabla. 8-3. Tiene animales vacunos

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
SI	49	45,4	46,2
NO	55	50,9	51,9
No contestan	2	1,9	1,9
Total	106	98,1	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 12-3. Tiene animales vacunos

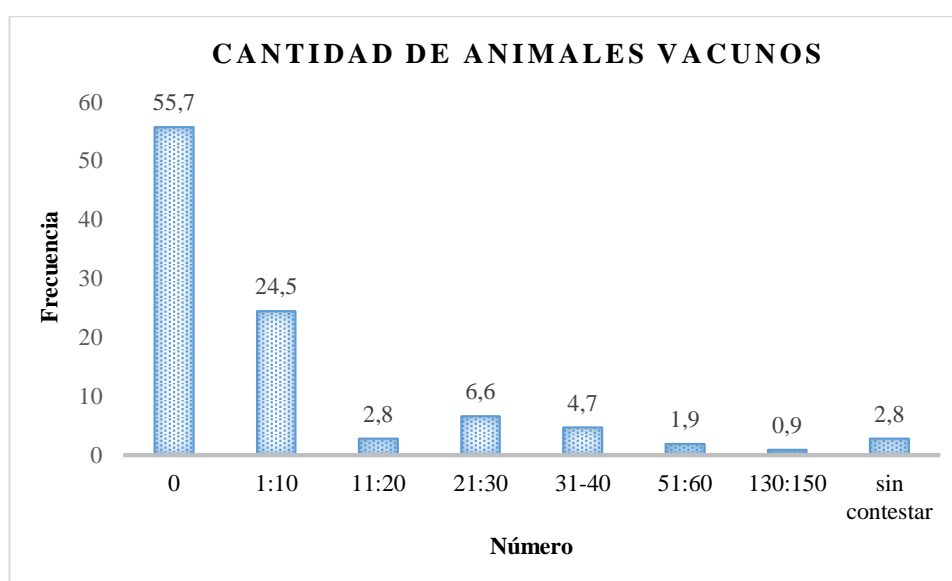
Realizado por: Brenda Pinargote

En la Tabla 8-3 se evidencia que los estudiantes de la Escuela de Zootecnia mencionan no tener animales vacunos en un 51,9% y los que afirman tenerlo representa el 46,2%; estos porcentajes casi similares se relacionan con el número de animales que los universitarios poseen. Considerando a este punto como un factor de transmisión de alto riesgo a los que se expone el estudiante.

Tabla. 9-3. Cantidad de animales vacunos

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje válido
0	59	55,7
1-10	26	24,5
11-20	3	2,8
21-30	7	6,6
31-40	5	4,7
51-60	2	1,9
130-150	1	,9
sin contestar	3	2,8
Total	106	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 13-3. Cantidad de animales vacunos

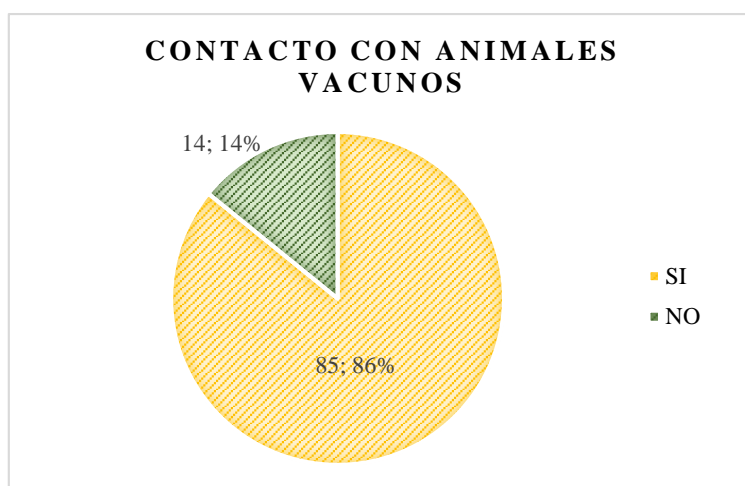
Realizado por: Brenda Pinargote

Para la presente variable: número de animales vacunos que tienen los estudiantes se decidió agruparlos por rangos: Entre 1 a 10 animales representó el mayor porcentaje siendo este de 24,5% como se observa en la Tabla 9-3, situación que relaciona con la variable de tener animales vacunos en la cual se encuentra que el 46% de estudiantes tiene al menos un animal vacuno que está cercano a él y al no poseer animales vacunos el 2.8% no contesta a esta pregunta.

Tabla 10-3. Mantiene un contacto directo con animales vacunos

Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
SI	91	85,8	85,8
NO	15	14,2	14,2
Total	106	100,0	100,0

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016



Gráficos 14-3. Contacto con animales vacunos

Realizado por: Brenda Pinargote

Se evidencia en el Gráfico 14-3 que el 85.8% de los estudiantes si tienen un elevado contacto con los animales debido al tipo de carrera que están cursando además por las practicas pre-profesionales y obligadamente por el perfil profesional que maneja su pensum académico e incluso por poseer animales vacunos.

3.2. Resultados del análisis de sueros sanguíneos

Después de analizar los sueros sanguíneos se obtiene los siguientes datos:

Tabla 11-3. Resultado del análisis mediante Rosa de Bengala

Muestra	Prueba serológica	Resultado
106 sueros sanguíneos de estudiantes	Rosa de Bengala	Negativo
0 sueros sanguíneos		Positivos

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016

Luego de a ver analizado las encuestas epidemiológicas y los 106 sueros sanguíneos mediante la prueba de Rosa de Bengala se realizó la prueba confirmatoria del 2- mercaptoetanol a los posibles sueros considerados según la encuesta epidemiológica:

Tabla 12-3. Resultado del análisis mediante 2- Mercaptoetanol

Muestra	Prueba serológica	Resultado
20 sueros sanguíneos	2-Mercaptoetanol	Reacción negativa

Realizado por: Brenda Pinargote, 2016

En la actualidad dentro del cantón Riobamba no existen estudios de brucelosis en humanos, más bien solo en animales; debido a eso se tomó un estudio realizado en Venezuela; en el que trabajaron con 204 estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes el cual demostró que solo 3 estudiantes resultaron positivos a esta técnica Rosa de Bengala (Lugo, Perez, & Andueza, 2010), a diferencia de la presente investigación, que ningún caso dio como positivo; una posible explicación es que en Riobamba al igual que en todo el Ecuador ya se implementó una campaña de Control y Prevención de esta zoonosis denominada Vacunación contra Brucelosis bovina en el año 2009 (MINISTRO DE AGRICULTURA, GANADERIA, PESCA, 2009), motivo por el cual observamos con este estudio que posiblemente si se está erradicando con la enfermedad en el ganado y por ende ya no será transmisible a los productos que consumimos.

Desde su aislamiento inicial se han desarrollado un gran número de pruebas serológicas para la detección de *Brucella spp.* sin embargo hasta la actualidad no hay evidencia de que una prueba sea 100% precisa, por lo que el suero es sometido a distintas pruebas serológicas, es decir, una prueba de detección de alta sensibilidad seguido de una confirmatoria de alta especificidad. (NIELSEN, K et al. 2010. p. 65)

A pesar de los importantes avances hechos en el diagnóstico de brucelosis humana aun esta se encuentra basada en la demostración de anticuerpos específicos mediante distintas técnicas serológicas, una de ellas Rosa de bengala: prueba de aglutinación en placa rápida que es capaz de detectar anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes; esto dota a que sea una prueba con un alto grado de sensibilidad para el diagnóstico de la infección de *Brucella spp* independientemente de la etapa de la enfermedad. (RUIZ, J. et al. 2005. 224)

En un estudio de Brucelosis: comparación de test serológicos de diagnóstico se mencionó y destacó la alta rentabilidad de la prueba Rosa de Bengala para un diagnóstico inicial de Brucelosis. (ORTÍZ, M. et al. p. 19)

En una validación de técnicas diagnósticas para la detección de brucelosis se concluyó que en Ecuador tanto la brucelosis bovina como la humana son un grave problema por la complejidad sintomatológica en los humanos además de la baja notificación de casos, la ausencia de estudios epidemiológicos, la escasa identificación de la *Brucella spp*, y la limitación de técnicas de diagnóstico sin la debida confirmación de los resultados; por todo lo mencionado hacen que esta

situación de la brucelosis aparezca como desconocida dentro de Ecuador en los documentos de divulgación internacional. (FLOR, S. 2015. p. 3)

Se realizó además una prueba extra para el aporte del estudio aplicada en leches cruda procedentes de los mercados del cantón Riobamba; mediante la técnica de Anillo en leche, el cual concluyó en que la muestra de leches cruda de los mercados Santa Rosa, Condamine, y San Alfonso no presentan anticuerpos contra *Brucella spp.*

En el boletín epidemiológico 2014-2015 de la Coordinación Zonal 3, no se evidencia casos de brucelosis humana en el cantón Riobamba, más bien en el 2015 en Latacunga se presentó un caso como positivo; se observa en la Tabla 13-3. (MSP. 2016. p. 11)

Tabla. 13-3. Casos por distrito de salud. Año 2014-2015

DISTRITO	Brucelosis	
	2014	2015
05D01 LATACUNGA	-	1
05D02 LA MANÁ	-	-
05D03 PANGUA	-	-
05D04 PUJILI -SAQUISILI	-	-
05D05 SIGCHOS	-	-
05D06 SALCEDO	-	-
06D01 CHAMBO - RIOBAMBA	-	-
06D02 ALAUSI -CHUNCHI	-	-
06D03 CUMANDA - PALLATAN	-	-
06D04 COLTA - GUAMOTE	-	-
06D05 GUANO PENIPE	-	-
16D01 PASTAZA-MERA-S.CLARA	-	-
16D02 ARAJUNO	-	-
18D01 AMBATO...	-	-
18D02 HUACHI...	-	-
18D03 BAÑOS	-	-
18D04 PATATE -PELILEO	-	-
18D05 PILLARO	-	-
18D06CEVAL-MOCHA-QUERO-TISALEO	-	-
TOTAL	-	1

Fuente: MSP, 2016

CONCLUSIONES

- Mediante la encuesta epidemiológica luego de ser validada por el método Delphi y analizada, se pudo constatar datos de los estudiantes de la escuela de Ingeniería Zootécnica; debido a que por ende son un grupo de riesgo. Se evidenció que el grupo etario es de 21 años promedio con un mayor porcentaje del género masculino, provenientes en su mayoría del cantón Riobamba; estos estudiantes sí consumen productos lácteos sin pasteurizar y carnes rojas, además mantienen un contacto directo con los animales vacunos debido a su perfil profesional y a más de eso por la manipulación de animales propios.
- La población que fue sujeta al estudio de la Escuela de Ingeniería Zootécnica, ESPOCH no evidencia la presencia del agente microbiano, debido a que no existen casos positivos para brucelosis en ninguna de las dos pruebas aglutinantes realizadas, a pesar de que proceden de zonas endémicas y de que consumen productos lácteos sin pasteurizar. Teniendo como observación el caso de una estudiante que tuvo la patología y la misma fue tratada antes de la realización del estudio.
- Se concientizó a cerca de la importancia de la realización de este estudio, nombrando que las secuelas que la brucelosis ocasiona en el ser humano son de diferentes formas, debido que en un inicio se presenta fiebre elevada con un malestar del cuerpo general; de manera localizada presenta sacroileitis en jóvenes y espondilitis en varones de edad avanzada; al no ser tratada puede dejar grandes lesiones en cualquier órgano del cuerpo ocasionando patologías degenerativas.

RECOMENDACIONES

- Conceptualizar de una manera generalizada a cerca de brucelosis bovina y humana; a su vez difundir los resultados conseguidos a servicios de salud pertinente con el fin de controlar y prevenir esta enfermedad zoonótica.
- El organismo AGROCALIDAD como ente a cargo debe regular y brindar información mediante capacitaciones acerca de brucelosis en combinación con el ser humano además de tener una mayor vigilancia en los productos lácteos no pasteurizados que se expenden en los mercados.
- Se debe presentar un informe del seguimiento epidemiológico para conocer el impacto económico que deja esta zoonosis en las distintas zonas de estudio.
- Se debe realizar similares estudios en otros grupos de riesgo como trabajadores de camales, profesionales relacionados con el agro, personal del laboratorio con el fin de constatar que se encuentran libre de esta bacteria.
- En Ecuador debe existir un laboratorio de referencia nacional para que realice el control de calidad de los reactivos, pruebas diagnósticas, vacunas e incluso para que se efectúe el aislamiento y tipificación de las *Brucellas*.

BIBLIOGRAFÍA

ALVAREZ, N; et al. “*Brucelosis, una zoonosis frecuente*”. Revista de Medicina e Investigación [en línea], 2015, (México) 3(2), pp. 130-133. [Consulta: 15 junio 2016]. ISSN 2214-3106. Disponible en: <<http://www.elsevier.es/es-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-brucelosis-una-zoonosis-frecuente-S2214310615000382?redirectNew=true>>

BARROS MORALES, Carlos Ivan. *Determinación del índice de prevalencia de Brucelosis bovina en el cantón Naranjal provincia del Guayas* (Tesis). (Trabajo de investigación). [En línea] Universidad Técnica de Machala, Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootécnica. Machala (Ecuador). 2015. Pp.11. [Consulta: 2016-06-14]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1546/7/CD551_TESIS.pdf>

BARZOLA, Santiago. “*Estudio de cadenas pecuarias de Ecuador*” [En línea]. Ecuador, 2013 p.37. [Consultado: 12 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/bovinos/mercados/carnes/_archivos//000002=Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador/000008-Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador.pdf>

CARRILLO Carlos et al. “*Brucellosis*”. *Medicina Experimental* [en línea], 1997, 14(1), p.1. [Consulta: 24 julio 2016]. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/medicina_experimental/v14_n1/brucellosis.htm>

CASTRO, H. “*Brucelosis una revisión práctica*”. Bioquímica Clínica Latinoamericana [en línea], 2005, 39(2), pp: 206,212. [Consulta: 15 junio 2016]. ISSN 0325-2957. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539208>

CEDEÑO, Pablo. *Determinación de la brucelosis en humanos mediante la técnica de LAMP en camales municipales de la provincia de Los Ríos.* (Tesis) (Ingeniero Agropecuario). Universidad técnica estatal de Quevedo, Carrera ingeniería agropecuaria. Quevedo, Ecuador. 2012. pp.11, 33. [Consulta: 2016- 09- 22]. Disponible en: <<http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/566/1/T-UTEQ-0107.pdf>>

CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH (CFSPH). *Brucellosis.* [En línea]. Primera edición. Ames, 2009. [Consultado: 12 julio 2016]. Disponible en: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=brucellosis-human&lang=es>>

Cipriano, Manuel. *Todo lo que se debe saber sobre brucelosis en bovinos* [blog]. [Consulta: 13 agosto 2016]. Disponible en: <<http://manuelcipriano.blogspot.com/2014/01/todo-lo-que-se-debe-saber-sobre.html>>

CORRAL, Y. “Validez y confiabilidad de los instrumentos de investigación para la recolección de datos”. CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN [En línea], 2009, (Valencia) 19 (33), pp. 233-234. [Consulta: 5 de octubre 2016]. Disponible en: <<http://servicio.bc.uc.edu.ve/educacion/revista/n33/art12.pdf>>

EL UNIVERSO. *Se inicia la vacunación contra brucelosis bovina.* [En línea]. Ecuador, 2009. [Consultado: 6 octubre 2016]. Disponible en: <<http://www.eluniverso.com/2009/09/19/1/1416/inicia-vacunacion-contr-brucelosis-bovina.html>>

ESCOBAR IGLESIAS, Francisco Daniel. *Incidencia – prevalencia y plan de control de brucelosis bovina en hatos lecheros de la sierra norte ecuatoriana.* [En línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootecnia. Riobamba (Ecuador). 2011. p. 33. [Consulta: 2016-07-23]. Disponible en: <<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2247/1/17T1155.pdf>>

FLOR ALVAREZ Silvia Iliana. *Prevalencia y factores de riesgo de brucelosis bovina en ganaderías de la isla Puná, 2012.* [En línea] (Tesis). (Maestría). Universidad de Guayaquil, Facultad piloto de Odontología, Escuela de postgrado "DR. JOSÉ APOLO PINEDA". 2015. p. 3. Consulta [2016-10-05]. Disponible en: <<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7077/1/FLOR%20ALVAREZ%20SILVIA%20ILLIANA.pdf>>

GARCÍA VÁSQUEZ. *Factores de riesgo para brucelosis como enfermedad ocupacional “REVISIÓN DOCUMENTAL”* (Tesis). (Trabajo de tesis). Pontificia universidad javeriana, facultad de enfermería y medicina, especialización en salud ocupacional, BOGOTÁ. 2007. pp. 4,19. [Consulta: 2016-09-23]. Disponible en: <<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/enfermeria/tesis42.pdf>>

Gobierno del Principado de Asturias, 2005. *Zoonosis.* Disponible en: <https://tematico8.asturias.es/repositorio/seguridad-alimentaria/articulos/articulo_1184312557371.html?pagina=2>

Guioteca, *Zoonosis, enfermedades que se transmiten a humanos* [blog]. Empresa El Mercurio. 2011. [Consulta: 22 agosto 2016]. Disponible en: <<https://www.guioteca.com/mascotas/zoonosis-enfermedades-que-se-transmiten-a-humanos/>>

Ibañez, Consuelo. *Epidemiología de la brucelosis* [blog]. [Consulta: 12 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.madrimasd.org/blogs/salud_publica/2007/05/30/66687>

Instituto Nacional de Salud. *Brucelosis humana datos retrospectivos en Colombia 2009*. Bogotá D.C. 2009. [Consulta: 13 Agosto 2016]. Disponible en: <<http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiologico/Brucelosis%20Humana%202009.pdf>>

LÓPEZ, A. *Microbios: Brucella* [en línea]. México, 2015. [Consulta: 16 julio 2016]. Disponible en: <<http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/>>

LUCERO, N. et al. *Manual de Procedimientos: Técnicas para el Diagnóstico de Brucelosis Humana* [en línea]. 2008. [Consulta: 14 de junio 2016]. Disponible en: <http://bvs.panalimentos.org/local/File/manual_procedimientos_brucelosis_2008.pdf>

MARTÍNEZ, P. “*Brucelosis humana: situación epidemiológica en Chile, 2001-2010*”. Chilena Infectol [en línea], 2013, (Chile) 30(6), p. 665. [Consulta: 12 de septiembre 2016]. ISSN 0716-1018. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000600013>

MARTÍNEZ, M et al. *Enfermedades Raras un enfoque práctico*. [En línea]. Madrid: Martínez Maravilla, 2004. [Consulta: 23 septiembre 2016]. Disponible en: <<http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=19/10/2012-ef90883d23>>

MÉNDEZ, Iván et al. “*Seroprevalencia de Brucella spp en estudiantes de Medicina Veterinaria*”. *Salud UIS*, v.45, n2 (2013), (Bogotá-Colombia) pp. [Consulta: 19 Julio 2016]. ISSN 2145-8464. Disponible en: <<http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/3603/4071>>

Micromadrid. Tema 22. *Géneros Brucella, Legionella, Pasteurella y Francisella* [en línea]. [Consulta: 22 agosto 2016]. Disponible: <http://www.micromadrid.org/pdf/tomo1_tema22.pdf>

Ministerio de Salud Pública. *Programa de Control de la Zoonosis*. [En línea]. Ecuador, 2008. pp. 1-3. [Consulta: 26 Agosto 2016]. Disponible en: <http://instituciones.msp.gob.ec/dps/losrios/index.php?option=com_content&view=article&id=37&Itemid=95>

MINSA. *Zoonosis* [en línea]. 2015. [Consulta: 25 julio 2016]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=15>

MONTES, Isaias. “*DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS*”. *Control Calidad SEIM* [En línea], Plasencia, pp. 2-4. [Consulta: 2016 agosto 23]. Disponible en: <<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>>

MORENO PAREDES, CELSO. *Detection of antibodies against Brucella abortus in bovine*. [En línea], 1999, [Consulta: 23 julio 2016]. Disponible en: <<http://scholarsarchive.byu.edu/etd/5405/>>

Ministerio de Salud. *Enfermedades infecciosas Brucelosis* [en línea]. 2013. [Consulta: 23 septiembre 2016]. Disponible: <<http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>>

NIELSEN, K. et al. “*Serological diagnosis of brucellosis*”. *Sec. Biol. Med. Sci., MASA* [en línea], 2010, (Canadá), p. 65. [Consulta 10 octubre 2016]. ISSN 0351–3254. Disponible en: <<http://manu.edu.mk/prilozi/4kn.pdf>>

NIH. *Brucella taxonomy and evolution*

NTE INEN 0009 (2008) (Spanish): *Leche cruda. Requisitos*

NT No. 002-MINSA/DGSP-V.01. R.M. 978 – 2003/MINSA. *Norma técnica de diagnóstico y tratamiento de brucelosis humana*

OIE. *Brucelosis*. Paris. p. 1. [Consultado: 23 agosto 2016]. Disponible en: <<http://www.oie.int/doc/ged/D13939.PDF>>

PAREDES VARGAS, Sergio Ramón. *Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la parroquia Alluriquin, recinto Cristal de Lelia* (tesis). (Informe técnico del proyecto de investigación). Escuela Politécnica del Ejército, Ciencias de la Vida, Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Santo Domingo (Ecuador). 2012. pp.17, 18,22. [Consulta: 2016-07-02]. Disponible en: <<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5566/1/T-ESPE-IASA%20II%20-%20002457.pdf>>

PRO ECUADOR. *Alimentos frescos y procesados*. Ecuador, 2015. [Consultado: 6 octubre 2016]. Disponible en: <<http://www.proecuador.gob.ec/sector1-3/>>

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE ENFERMEDADES ZONÓTICAS. *Qué son las zoonosis*. [En línea]. Argentina. [Consultado: 26 Agosto 2016]. Disponible en: <<http://www.msal.gob.ar/zoonosis/index.php/component/content/frontpage>>

Salud ambiental. Zoonosis - Enfermedades transmitidas de los animales al hombre. <http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=Page&cid=1354547322387&pagename=PortalSalud%2FPage%2FPTSA_pintarContenidoFinal>

SBRIGLIO, J.; SBRIGLIO, H.; SAINZ, S. “Brucelosis” *Bianálisis* [en línea], 2007, (Argentina), p.17. [Consulta: 02 julio 2015]. Disponible en: <http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota3_13.pdf>

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. *Plan nacional del buen vivir 2013-2017* [en línea]. Ecuador, 2013. [Consulta: 14 Agosto 2016] Disponible en: <<http://www.buenvivir.gob.ec/objetivo-3.-mejorar-la-calidad-de-vida-de-la-poblacion#tabs2>>

SOARES, Catharina de Paula Oliveira Cavalcanti et al. Prevalencia de la *Brucella* spp en humanos. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [online]. 2015, vol.23, n.5 [cited 2016-10-05], pp.919-926. ISSN 0104-1169. Disponible en: <<http://www.scielo.br/pdf/rlae/v23n5/0104-1169-rlae-23-05-00919.pdf>>

SPICKLER, A. ROTH, J. GALYON, J. LOFSTEDT, J. LENARDON, M. *Enfermedades Emergentes y Exóticas de los Animales* [en línea]. Ames- Estados Unidos: College of Veterinary Medicine, 2011. [Consulta: 03 julio 2016]. Disponible en: <<https://books.google.com.ec/books?id=s1R6wsyeT4IC&pg=PA104&dq=etiologia+brucelosis&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjA5JuUm5XOAhUCqR4KHcsiB5oQ6AEITAB#v=onepage&q=etiologia%20brucelosis&f=false>>

TELLO, O. et al. "Historia de la brucelosis". *Ciencia y el hombre* [en línea], 2011, (Veracruz) 24(2), [Consulta: 23 septiembre 2016]. Disponible en: <<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/brucelosis/>>

VEGA, C et al. 2008 Disponible en: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2008/am084c.pdf>>

ANEXOS

ANEXO A: Encuesta de datos epidemiológicos



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

La presente encuesta forma parte del proyecto titulado: "DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp.* EN MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE ZOOTÉCNICA DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO EN EL PERIODO DE ABRIL - JUNIO 2016" por ende necesitamos que sus respuestas sean lo más SINCERAS posibles.

ENCUESTA DE DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

EDAD: _____

GÉNERO: _____

1. ¿Cuál es su lugar de procedencia?

2. ¿Usted consume productos lácteos sin pasteurizar?
SI _____ NO _____

SI SU RESPUESTA ES AFIRMATIVA

3. Con ¿qué frecuencia consume leche cruda?
Diaria Semanal Mensual Esporádica

4. ¿Dónde adquiere la leche que consume?
Supermercados Tiendas Mercados Vendedores ambulantes

5. Con ¿qué frecuencia consume queso fresco?
Diaria Semanal Mensual Esporádica

6. ¿En qué lugar adquiere este producto?
Supermercados Tiendas Mercados Vendedores ambulantes

7. ¿Usted consume carnes de res?
SI _____ NO _____

SI SU RESPUESTA ES SI

8. ¿Con qué frecuencia lo hace?
Diaria Semanal Mensual Esporádica

9. ¿En qué lugar compra este producto?
Tiendas Mercados Tercenas Supermercados

10. ¿Usted o su familia tienen animales vacunos?
SI _____ NO _____

11. Si su respuesta es afirmativa ¿cuántos animales?

12. ¿Usted tiene o ha tenido algún tipo de contacto directo con animales vacunos?

SI _____

NO _____

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA



**CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ESTUDIO DE BRUCELOSIS
HUMANA**

Yo,..... con cédula de identidad N°....., por medio del presente doy constancia de que fui informado/a del objetivo del trabajo titulado: “DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp*, EN MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE ZOOTÉCNICA DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO EN EL PERIODO DE ABRIL - JUNIO 2016” realizado por la Srta. Brenda Pinargote. Y doy mi consentimiento para que me sea tomada la muestra de sangre, así como de los datos epidemiológicos de interés para este estudio. Sabiendo que los resultados obtenidos serán usados únicamente para los fines descritos en el estudio y manteniendo la confiabilidad de los mismos.

EN FÉ DE ESTO FIRMO LA PRESENTA SOLICITUD.

C.I. _____

Lugar y fecha: _____

ANEXO C: **Reporte de resultados**



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp*

NOMBRE:

RESULTADO:

Riobamba; 31 de Mayo 2016

ANEXO D: Fotografías



Fotografías 1-3. Materiales para la toma de muestras

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 2-3. Toma de muestra de sangre

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 3-3. Separación del suero sanguíneo

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 4-3. Reactivos para las pruebas serológicas

Tomada por: Brenda Pinargote

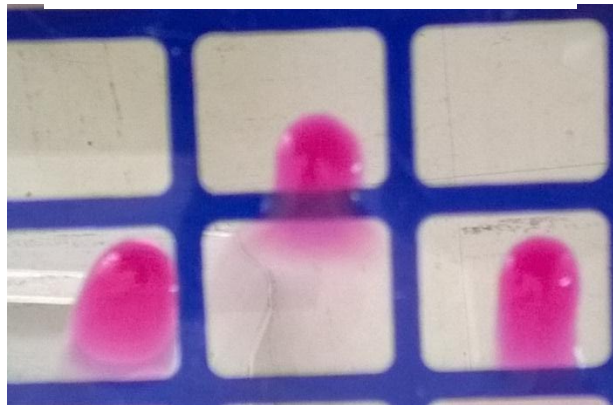


Fotografías 5-3. Unidad de lectura para aglutinación

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 6-3. Análisis mediante la prueba Rosa de Bengala
Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 7-3. Prueba Rosa de Bengala
Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 8-3. Control positivo (izquierdo) y negativo Rosa de Bengala
Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 9-3. Muestras de sueros sanguíneos congeladas

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 10-3. Reactivos y materiales para la prueba 2-Mercaptoetanol

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 11-3. Análisis mediante la prueba 2-mercaptoetanol

Tomada por: Brenda Pinargote



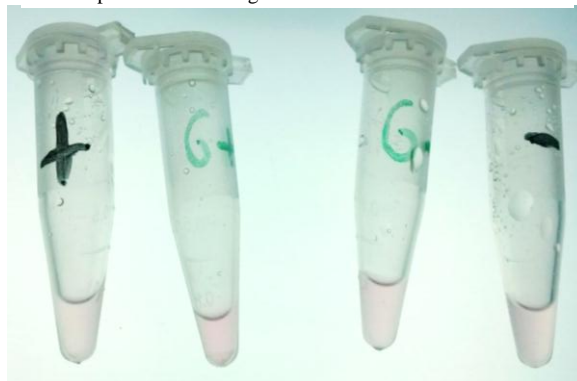
Fotografías 12-3. Análisis con 2-mercaptoetanol

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 13-3 Muestra con 2-mercaptoetanol en la estufa por 24 horas

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 14-3. Controles positivos y negativos 2-mercaptoetanol

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 15-3. Muestras de leche y reactivos de la Prueba de Anillo en leche

Tomada por: Brenda Pinargote



Fotografías 16-3. Resultado de la Prueba de Anillo en leche

Tomada por: Brenda Pinargote