

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Médica Veterinaria Zootecnista*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“PREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN COBAYOS (*Cavia porcellus*)
DE PRODUCCIÓN, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA
INDIRECTA”**

AUTORA:

DIANA PATRICIA PERALTA ORTIZ

TUTOR:

MGT. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA

CUENCA - ECUADOR

2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Diana Patricia Peralta Ortiz con documento de identificación N° 0106148729, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN COBAYOS (*Cavia porcellus*) DE PRODUCCIÓN, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA ”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médica Veterinaria Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribió este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero del 2021.



Diana Patricia Peralta Ortiz

C.I. 0106148729

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN COBAYOS (*Cavia porcellus*) DE PRODUCCIÓN, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”**, realizado por Diana Patricia Peralta Ortiz, obteniendo el *Trabajo Experimental* , que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero del 2021.



Mgt. Mauricio Xavier Salas Rueda

C.I. 0603329681

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Diana Patricia Peralta Ortiz con documento de identificación N° 0106148729, autora del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN COBAYOS (*Cavia porcellus*) DE PRODUCCIÓN, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, enero del 2021.



Diana Patricia Peralta Ortiz

C.I. 0106148729

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo le dedico principalmente a Dios, por es el ser inspirador y darme la voluntad para poder continuar con este proceso de formación, como también el ser mi fuerza ya que varias ocasiones he caído y me ha dado la mano para levantarme y seguir adelante hasta lograr una de mis grandes metas. Donde también tengo que reconocer que sin mi gran pilar que es mi madre Noemi Ortiz, por su amor, trabajo y sacrificio durante todos estos años, ya que sin su gran apoyo he logrado llegar a este punto, pero como he contado con el apoyo de mi madre hay que reconocer que otra persona también me ha brindado ayuda cuando ya no podía, ella es mi abuelita Lucia Cáceres, y a todas las personas que me han apoyado y han hecho que este trabajo se realice con éxito y en especial aquellos que me ha abierto las puertas y compartieron sus conocimientos.

Como también hay que dar gracias aquellas personas que me ha brindado su apoyo moral desde que entre a estudiar esta maravillosa carrera, y estos son mis ejemplos a seguir, mis maestros del colegio, donde ellos me ayudaron a poner en claro mis objetivos, me dieron unas herramientas, las cuales las tome y me han ayudado a lo largo de estos años de estudio.

A mis maestros. Dr. Patricio Garnica por el apoyo y la motivación que nos ha brindado para poder culminar nuestros estudios profesionales, al Ing. Mauricio Salas por el apoyo ofrecido en este trabajo; al Ing. Pedro Webster por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional y humana.

Gracias a todos por ayudar, por ser aquellos que me han dicho: ¡tú si puedes, sigue adelante, que aunque sea difícil todo se logra!, con fe llegaras a ser una gran persona.

AGRADECIMIENTO

En estas líneas me gustaría agradecer a todas las personas que me han prestado su ayuda durante el proceso de esta investigación y la redacción de este trabajo. En primer lugar, quiero agradecer a dos grandes mujeres que son mi madre y abuelita que me han ayudado y apoyado en todo, durante este largo camino, a mi tutor, Ing. Mauricio Salas, por haberme orientado en todos los momentos que necesite de su ayuda y consejos.

Y doy gracias a mi prima política Andrea, que me ayudo en corregir este documento en el momento de redacción.

Agradezco de igual manera a todos los docentes de la Carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia, quienes, durante mi vida universitaria, han sido un apoyo, como también unos excelentes docentes, quienes han sabido compartir sus conocimientos, brindando herramientas útiles y necesarias para mi vida profesional. Gracias a todos por confiar en mí.

ÍNDICE GENERAL

RESMEN	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1. PROBLEMA.....	15
1.2. DELIMITACIÓN	16
1.2.1. Temporal.....	16
1.2.2. Espacial.....	16
1.2.3. Académica.....	16
1.3. EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA	16
1.4. OBJETIVOS	17
1.4.1. Objetivo general.....	17
1.4.2. Objetivo específico	17
1.5. HIPÓTESIS.....	17
1.5.1. Hipótesis nula.....	17
1.6. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	17
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRAFICO Y DOCUMENTAL.....	19
EL COBAYO (<i>Cavia porcellus</i>).....	19
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL COBAYO	19
SISTEMAS DE PRODUCCION.....	19
- Sistema de producción familiar	19
- Sistema familiar comercial	20

- Sistema comercial	20
ENFERMEDADES.....	20
Brucelosis.....	21
Sinonimia	21
Importancia	21
Etiología.....	21
Riesgo zoonótico y requisito de bioseguridad	22
Síntomas.....	23
Diagnostico	23
Tratamiento	23
TECNICAS PARA DETERMINAR BRUCELOSIS.....	24
ELISA	24
TÉCNICA ROSA DE BENGALA (RB)	24
REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	25
BRUCELOSIS EN EL ECUADOR.....	25
3. MATERIALES Y METODOS	27
3.1. MATERIALES	27
3.1.1. Físicos	27
3.1.2. Biológicos	28
3.1.3. Químicos	28
3.2. MÉTODOS	29

3.2.1.	Diseño estadístico	29
3.2.2.	Selección y tamaño de la muestra.....	29
3.2.3.	Obtención de muestras sanguíneas	29
3.3.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
4.1.	RESULTADOS.....	32
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
5.1.	CONCLUSIONES	35
5.2.	RECOMENDACIONES.....	35
6.	BIBLIOGRAFIA	36
7.	ANEXOS	42

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales Físicos	27
Tabla 2. Materiales Biológicos	28
Tabla 3. Materiales Químicos	28
Tabla 4. Variables dependientes: prevaecía de anticuerpos mediante ELISA indirecto	31
Tabla 5. Variables independientes: Animales.....	31
Tabla 6. Prevalencia de Brucella abortus en cobayos del cantón Paute.	34
Tabla 7 : como están conformado cada pool de Paute.....	42
Tabla 8 : distribución de muestras de los pools	42
Tabla 9 : resultados obtenidos en el equipo de ELISA de los pools.....	43

INDICE DE FIGURAS Y FOTOS

<i>Figura n° 1: Resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA indirecto.....</i>	<i>32</i>
<i>Foto 1: rotulación de tubos de tapa roja</i>	<i>44</i>
<i>Foto 2: Muestras sanguíneas</i>	<i>44</i>
<i>Foto 3: suero sanguíneo de cuyos.....</i>	<i>45</i>
<i>Foto 4: kit de ELISA indirecto</i>	<i>45</i>
<i>Foto 5: micro placas previas a la lectura en el equipo de ELISA</i>	<i>46</i>
<i>Foto 6: equipo de ELISA y las micro placas sensibilizadas</i>	<i>46</i>
<i>Foto 7: tesista pipeteando los sueros de cobayos.....</i>	<i>47</i>
<i>Hoja de trabajo de ELISA indirecto.....</i>	<i>48</i>

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la prevalencia de brúcela (*Brucella abortus*) en cobayos (*Cavia porcellus*) de producción, mediante la técnica de ELISA indirecta, esta práctica se llevó a cabo los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.

Este trabajo consiste en tomar 89 muestras sanguíneas de cobayos, las muestras fueron tomas en un centro de faenamiento, directamente de la yugular al momento del sacrificio, para luego ser procesadas en el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana, para poder extraer el suero sanguíneo y ser conservadas en congelación a una temperatura de -4°C. Para la validación de los resultados se consideró los parámetros estrablecidos en el interceptum de kit de ELISA indirecto de IDvet (Innovative Diagnostics). El 100% de la población estudiada, tuvo una baja carga de anticuerpos presente, por lo que se concluyó que la prevalencia de la enfermedad es nula en los cobayos de producción del cantón Paute.

ABSTRACT

In the present research work, the objective was to determine the prevalence of brucella (*Brucella abortus*) in production guinea pigs (*Cavia porcellus*), using the indirect ELISA technique, this practice was carried out in the laboratory of the Polivet clinic owned by the Salesian Polytechnic University, Cuenca.

For the procedure of this work, it consisted of taking 89 blood samples from guinea pigs, the samples were taken in a slaughterhouse, directly from the jugular at the time of slaughter, to later be processed in the laboratory of the Salesian Polytechnic University, in order to extract the blood serum and be kept frozen at a temperature of -4°C. For the validation of the results, the parameters established in the indirect ELISA kit interceptum from IDvet (Innovative Diagnostics) were considered. 100% of the population studied had a low antibody load present, which is why it was concluded that the prevalence of the disease is nil in production guinea pigs from the Paute canton.

1. INTRODUCCIÓN

Un factor importante para el surgimiento de nuevos patógenos es la estrecha relación que existe entre el hombre y los animales; esto es debido a que en lo largo de la evolución el ser humano ha invadido el hábitat de especies silvestres o el movimiento de estos animales a zonas trabajadas por el hombre, provocando de tal manera el surgimiento de ciertos agentes infecciosos que pueden ser transmitidos de animal a hombre o viceversa, teniendo como resultado una enfermedad zoonótica. Considerando que desde hace muchos años atrás el cobayo ha formado parte de la cadena alimenticia del hombre, que en estos tiempos no solo forma parte de la gastronomía de varios países, sino que también son considerados como mascotas y animales de laboratorio, por lo que es importante tener conocimientos sobre las enfermedades que esta especie puede llegar a tener, ya que no solo puede afectar a su propia especie, sino que al hombre también, teniendo un gran relieve en la salud pública.

Por lo tanto, para llegar un diagnóstico correcto requiere de la ayuda de un profesional en este caso de un Médico Veterinario, el que se encargará de buscar una serie de síntomas y signos que evidencien una determinada patología; pero en varias ocasiones se requiere de un análisis más meticuloso por lo que se recurre al laboratorio; permitiendo al clínico reconocer, localizar y diferenciar de forma segura una enfermedad o poner en manifiesto alguna anomalía que permanece oculta. (Cando, 2010)

La brucelosis es una enfermedad provocada por una bacteria intracelular facultativa *Brucella abortus*, siendo de carácter zoonótico, encontrada a nivel mundial, afectando principalmente al ganado bovino, dejando como secuela la esterilidad del macho y abortos en las hembras gestantes, causando de esta manera pérdidas económicas al productor (Rivers R., Andrews E., Gonzales Smith A., Donoso G. y Oñate a., 2006).

En estudios realizados previamente, para brucelosis en cuyos, utilizaron la bacteria inoculada en estos animales, usando el suero de bovinos que eran portadores de la enfermedad,

aplicando de manera intraperitoneal a un grupo de cobayos, otros fueron aplicados de manera oral y ocular, para ser estudiados y ver su inmunidad adquirida como tal, demostrando que varios animales han tenido como resultado una pérdida ligera de peso y otros de manera notable; teniendo en cuenta que del mismo grupo que fue inoculado algunos murieron, siendo la causa de la muerte una peritonitis (Gwatkin, R., 1932).

Con esta investigación se requiere estimar la prevalencia de *Brucella abortus* en cobayos de producción con la técnica de ELISA indirecta, en el cantón Paute.

1.1.PROBLEMA

En la zona no se encuentra a disposición una información pertinente de la enfermedad presente en la especie, para que el Médico Veterinario puede llegar a determinar al agente patológico, lo mismo que debemos recalcar que la brucelosis es de carácter zoonótico.

En el Ecuador, de acuerdo al Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (MAG-SESA, 1999) la prevalencia de brucelosis en el país está entre el 1% -10%; y con otro estudio realizado en el país la seroprevalencia de brucelosis en este caso en bovinos, en promedio es de 1,08% (Fuentes-Quisigano, O., J. Paredes Muñoz y J. Mosquera, 2015).

Considerando que el tipo de alimentación de los cuyos es herbívora, los pastos son compartidos con otras especies portadoras de la enfermedad, en este caso los bovinos, puesto que esta enfermedad a los productores les provoca grandes pérdidas económicas, debido a que cuando es dada a conocer por las autoridades pertinentes, los animales positivos son sacrificados, y la restricción de comercializar sus productos de manera internacional.

Recalcando que la enfermedad es de carácter zoonótica, puesto que involucran un riesgo continuo al hombre y a los animales, siendo de gran importancia mantener información constante que oriente al ser humano sobre el comportamiento de estas enfermedades en la salud pública, por lo que es conveniente mantener a la ciudadanía informando sobre las enfermedades zoonóticas existentes en el país.

1.2.DELIMITACIÓN

1.2.1. Temporal

El proceso investigativo abarco una duración de 400 horas, distribuidas en el trabajo experimental y la redacción del documento final.

1.2.2. Espacial

La investigación se realizó en cobayos (*Cavia porcellus*), obtenidas en Paute. El cantón Paute se encuentra localizado al noreste de la Provincia del Azuay, con una latitud al sur 2°46'55" y longitud al oeste 78°45'6". Paute limita con el cantón Azogues al norte, los cantones Sevilla de Oro y Guachapala en el este, al sur con el cantón Gualaceo y con el cantón Cuenca al oeste. (Cornejo M., Zorrilla D., Burmúdez N., Estacio J., Arrazola I., Carrera F., Alaya C., Narváez N., Bermeo R., Yépez F., Feria M. y Llerena F., 2013)

1.2.3. Académica

Este trabajo de investigación y experimental, impulsa a realizar nuevas investigaciones en el área de laboratorio clínico, lo cual es de gran ayuda a nivel clínico, lo cual esta permite al Médico Veterinario llegar a un buen diagnóstico y tratamiento de los pacientes.

1.3.EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA

El presente trabajo está enfocado en describir la prevalencia de *Brucella abortus* en cobayo mediante la técnica de ELISA indirecta, generando información correspondiente a la enfermedad, con el fin de contribuir con un argumento científico y punto de partida en la relación Cobayo – Brucelosis. Por lo que en un estudio realizado hace poco, nos da a conocer que la Organización Mundial de la Salud (OMS), no le presta la suficiente atención a la brucelosis y otras enfermedades infecciosas consideradas como agentes zoonóticos (Mablesin H.E., Okello A., Picozzi K., y Welburn S. C., 2014).

Por lo que en este estudio de investigación estamos considerando a los cobayos como una especie portadora de *Brucella abortus*, debido que desde hace varios años atrás han sido

utilizadas como especies de estudio, para determinar el comportamiento patológico de la brucela humana (Hensel M. E y Arenas-Gamboa A.M., 2018)

(Cordero Puyol Erick Xavier, 2016) por lo que en la actualidad la necesidad en el estudio de la Medicina Veterinaria obliga al clínico a utilizar métodos de diagnóstico que ayuden a determinar las patologías de los pacientes

1.4.OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Determinar la *Brucella abortus* en cobayos (*Cavia porcellus*) de producción, mediante la técnica de ELISA indirecta.

1.4.2. Objetivo específico

Detectar anticuerpos dirigidos contra *Brucella abortus* en suero sanguíneo de cobayos en producción, mediante la técnica de ELISA indirecto.

Determinar la prevalencia de *Brucella abortus* en cobayos de producción.

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis nula

H0: La prevalencia es alta de *Brucella abortus* en cobayos (*Cavia porcellus*) de producción, en el cantón Paute.

1.5.2. Hipótesis alternativa

H1: La prevalencia es baja de *Brucella abortus* en cobayos (*Cavia porcellus*) de producción, en el cantón Paute.

1.6. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

El presente trabajo de investigación está enfocado en generar o establecer parámetros de Prevalencia de brucelosis (*Brucella abortus*) en cobayos (*Cavia porcellus*) de producción, mediante la técnica de ELISA indirecta, debido a que los propietarios de los animales conviven con una especie que puede ser afectada por este agente patógeno, eso sin mencionar que esta

enfermedad tiene importancia en la salud pública, ya que no solo afecta a los animales, sino que también al hombre.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

EL COBAYO (*Cavia porcellus*)

El cobayo, es una especie originaria de la Cordillera de los Andes de Colombia, Ecuador, Perú, donde está tiene una estrecha relación con el hombre, siendo como fuente de alimento de alta proteína y de baja grasa (Avilés, Martínez, Landi, y Delgado, 2014). A esta especie se le conoce también como: cobayo, curi, conejillo de indias o ginea pig (Sánchez, 2002, p.9).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL COBAYO

Reino	Animal
Clase	Mamífero
Orden	Roedores
Suborden	Hystricomorpha
Familia	Caviidae
Género	<i>Cavia</i>
Especie	<i>Cavia aparea aparea</i> ; <i>Cavia porcellus</i> (especie Doméstica)

Fuente: Vivas, Carballo, 2009, p.5

SISTEMAS DE PRODUCCION

En la producción de cuyes, se ha identificado tres diferentes tipos de producción: el de tipo familiar, el familiar comercial y el comercial (García,2011, p.12).

- Sistema de producción familiar

El sistema de producción familiar de cuyes, es conocida como el método casero, donde la alimentación de los animales es con restos de comida proveniente de la cocina y de pastos, siendo muchas veces inadecuado para los animales. Con ausencia de ayuda técnica para el manejo de los animales, donde son criados en grupo donde no son diferenciados de sexo, edad

o tipo, existiendo de esta manera un alto grado de consanguinidad, y la muerte de animales lactantes por una alta densidad de cuyes adultos (Amaguaña, 2012, p.64).

Según García (2011) la crianza de tipo familiar se da más en la región andina, donde el cuidado de los animales lo realiza los hijos, amas de casa o miembros de la familia, el manejo de los animales es responsabilidad de los niños y mujeres de casa. La cantidad de animales que crían este ente 10 a 50 cuyes; el número de animales a ser criados está limitado por la cantidad de alimento que dispone(pp.12-13)

- Sistema familiar comercial

El sistema de alimentación de cobayo en mediante productos agrícolas y pasto cultivado, en ocasiones utilizan suplementos alimenticios; contando de esta manera un control sanitario más estricto. Contando con instalaciones más adecuadas para la producción de los animales, los animales ya son agrupados de acuerdo a la edad, sexo y clase; por lo que la exigencia de más mano de obra para el manejo de los pastos y de los animales como tal (García, 2011, p.13).

- Sistema comercial

El sistema de crianza de tipo comercial, en esta ya existe el manejo técnico; utilizando ya pozos o jaulas para la selección de los animales de acuerdo a la etapa reproductiva que esta se encuentre y con una alimentación adecuada para los animales, a base de pastos verdes y balanceados (Amaguaña, 2012, p.64).

ENFERMEDADES

Este roedor como todo animal padece de enfermedades bacterianas, virales, parasitarias y orgánicas; motivos que predisponen a los animales a enfermedades son cambios repentinos en el medio ambiente, tales como variaciones de temperatura, humedad, o que estén en contacto directo a corrientes de aire, número elevado de animales, ausencia de limpieza de camas, falta de alimentación, etcétera. Las enfermedades que causan una alta mortalidad está dada por bacterias (Vivas, Carballo, 2009, p.35).

Brucelosis

Sinonimia

“Melitococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo (en el hombre), aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico (en animales), enfermedad de Bang (en bovinos)” (Ancha y Szyfres, 2001, p.28)

Importancia

De acuerdo con Freer, Castro Arce (2001) la brucelosis, antiguamente era conocida como la fiebre de Malta; donde fue inicialmente descrita de manera clínica por Marston en 1859 y Sir David Bruce aisló el agente causal en 1887. Siendo esta una enfermedad zoonótica y cosmopolita.

Es una enfermedad bacteriana causada por miembros del género *Brucella*, es una zoonosis importante y causante de grandes pérdidas reproductivas en los animales; es generalmente causada por *Brucella abortus* en los bovinos, *B. melitensis* o *B. ovis* en pequeños rumiantes, *B. suis* en cerdos y *B. canis* en perros, Institute for International Cooperation in Animal Biologics (IICAB, 2009, p.1).

Esta enfermedad es de carácter zoonótica, que se encuentra ampliamente distribuida en países en vía de desarrollo, afectando al hombre como a los animales. Las especies de brucelosis entre las más destacadas son: *B. Abortus*, *B. Melitensis*, *B. Ovis*, *B. Canis*, *B. Suis* y *B. neotomae* infectando a una gran variedad de especies animales domésticas y salvajes, como a los bovinos, caprinos, ovinos, caninos, suinos y roedores (Saldarriaga, Rugeles, 2002).

Etiología.

La *Brucella abortus* es un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo IICAB (2009), aerobias, no móviles, no son esporuladas y no encapsuladas (Rivas, 2015).

Las especies que se ven afectadas por la brucelosis se encuentran los ovinos, bovinos, caprinas, equino y porcino, incluyendo al hombre (Álvarez, Díaz y Ortiz, 2015, p. 130).

La brucelosis es una infección endémica aun en los países de Centroamérica y Sudamérica, en el Mediterránea, en el Norte y Este de África, Medio Oriente y Asia (Corbel, 2006).

La manera de transmisión de la enfermedad se puede dar cuando los animales lamen membranas fetales, fetos abortados, crías recién nacida y órganos genitales de hembras infectadas, el hombre para contraer esta infección es por la ingestión de productos de origen animal no pasteurizados como los alimentos lácteos, el consumo de carne cruda y de vísceras, contacto directo con animales infectados o por inhalación de partículas (Álvarez, Díaz y Ortiz, 2015, p. 132).

De acuerdo con Ancha y Szyfres (2001) el hombre puede adquirir la enfermedad de forma interhumana, ya que da a conocer que una niña de 30 días de nacida adquirió la enfermedad, de su madre por el consumo de leche, pero como también puede ser adquirida de manera sexual, transfusión de sangre o donación de médula ósea. Y el ganado puede contraer la enfermedad mediante la ingestión de alimentos contaminados como pastos, forrajes y agua, y fómites (p.40).

El periodo de incubación de la brucelosis en el ganado puede ser entre dos a cinco semanas (IICAB, 2009), mientras que el hombre puede ser entre una a tres semanas de incubación, e incluso puede durar hasta meses (Ministerio de la salud-Presidencia de la Nación, 2013).

Riesgo zoonótico y requisito de bioseguridad

Esta enfermedad es de fácil transmisión al hombre ya, que en este le causa fiebre, en la que puede progresar de forma más crónica, donde esta puede comprometer al sistema musculoesquelético, cardiovascular y al sistema nervioso central. La forma de contraer es mediante vía oral, respiratoria o conjuntiva, incluso por el consumo de productos lácteos crudos siendo esta el principal riesgo a la humanidad en lugares donde esta infección es aun endémica (OIE, 2018, p.5).

Los de mayor riesgo para contraer la enfermedad se encuentran los granjeros, veterinarios y los encargados de faenar a los animales (Álvarez, Díaz y Ortiz, 2015, p. 132).

Síntomas

Es una enfermedad multisistémica con un gran rango de síntomas, pero también es común que esta infección es asintomática (IICAB, 2009, p.3).

Los síntomas más relevantes ante la enfermedad se encuentran la “fiebre continua, intermitente o irregular, de duración variable, cefalea, fatiga, diaforesis, mialgias, pérdida de peso, anorexia, malestar generalizado, con o sin signos de localización como: artritis/espondilitis, meningitis endocarditis, orquitis/epididimitis” (Ministerio de la salud- Presidencia de la Nación, 2013)

Diagnóstico

Para realizar un diagnóstico de brucelosis se realiza la prueba de la rosa de bengala (RBT) y la de aglutinación en placa con antígeno tamponado (BPAT), como también la técnica de ELISA y la prueba de polarización de la fluorescencia (FPA) (OIE,2018, p.14).

En la técnica de ELISA lo que se puede detectar son los anticuerpos con IgG, IgA e IgM, en las que hacen el uso de proteínas citoplasmáticas como antígenos; por lo que esta prueba suele ser más sensible que la prueba de aglutinación (Jawetz, Melnick y Abelderg, 201, p.252)

Tratamiento (tto)

Para realizar el tratamiento contra esta infección, se puede utilizar las tetraciclinas o las ampicilinas, debido a que esta enfermedad es más sensible a estos antibióticos, el paciente se puede sentir más aliviado pocos días después de haber iniciado el tto; pero se debe tener en consideración la ubicación intracelular de la bacteria, por lo que esta no se elimina con facilidad del hospedador (Jawetz, Melnick y Abelderg, 2011, p.252)

TECNICAS PARA DETERMINAR BRUCELOSIS

ELISA

(Tizard, 2009) “las pruebas más importantes de inmunoanálisis empleadas en medicina veterinaria está el análisis de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA)”; esta técnica se puede emplear para detectar y medir los anticuerpos como los antígenos(Ag)(p.513).

Es un procedimiento que tiene múltiples variables, depende de la conjugación de enzimas con un Ac; por lo que, para medir los Ac, se fijan Ag conocidos en una fase sólida, incubando con una dilución del Ac estudiado, se lava y ser incuba de nuevo con Ac marcados contra la inmunoglobulina con una enzima. “La actividad enzimática se mide al añadir un sustrato específico y se valora la reacción del color” debido a que esta se encuentra en relación directa con la cantidad de Ac unido (Jawetz, Melnick y Abelderg, 2011, p.142).

“Se utiliza generalmente una antiglobulina reactiva, unida generalmente a una peroxidasa, fosfatasa o ureasa, para detectar la unión de anticuerpos al antígeno absorbido a un soporte inmóvil generalmente bandejas de microaglutinación, tubos, cuentas o láminas” (Chajon, 2015).

“La técnica de ELISA se caracteriza por su elevada sensibilidad y especificidad. Emplea una pequeña cantidad de suero y da buenos resultados aún en presencia de hemólisis. Existen varios tipos de ELISA para el diagnóstico de *Brucella* spp. como son el ELISA indirecto o el ELISA competitivo” (Coelho A., García D.J., y Coelho A.C., 2014).

TÉCNICA ROSA DE BENGALA (RB)

“La reacción del antígeno Rosa de Bengala, o antígeno tamponado, es una reacción de aglutinación rápida que utiliza como suspensión bacteriana, *Brucella abortus*, a la que se añade el colorante Rosa de Bengala en un medio ácido tamponado. Tras la mezcla a partes iguales del antígeno Rosa de Bengala y del suero, en caso de brucelosis aparecerán aglutinados coloreados. El límite de sensibilidad es de 25 UI/ml” (BIO-RAD, 2014).

Es una técnica de aglutinación en porta, utiliza con antígeno las células de *B. abortus* S99 o S1119-3, teñidas con RB a 1%, donde identifica principalmente IgM y IgG. El objetivo de esta prueba “consiste en mezclar el antígeno con el suero problema y observar la aglutinación sobre un fondo de luz blanca en un tiempo de 4 minutos, durante el cual deben realizarse movimientos circulares constantes” (Pérez, 2014).

La prueba rosa de bengala, es de carácter cualitativa capaz de determinar resultados positivos como negativos; siendo una técnica con elevada sensibilidad, pero su especificidad no es tan elevada debido a que no es capaz de diferenciar entre animales infectados de forma natural o inmunizados por el uso de una vacuna (Coelho A., García D.J., y Coelho A.C., 2014).

REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)PAGINA

El uso de la técnica de PCR, es posible obtener millones de copias de ADN (ácido desoxirribonucleico), en la “cual existe una o algunas copias de los cientos de miles que pueden llegar a construir el genoma de un organismo”. Esta técnica a planteado nuevas alternativas para el diagnóstico de varias enfermedades ya sean infecciosas como genéticas (Ortega, 1997).

Es uso del PCR, se ha empleado en varios estudios para detectar *Brucella spp.* en muestras de sangre, leche o materiales contaminados. “El hecho de amplificar secuencias específicas de ADN bacteriano permite plantear que sea utilizada como un método rápido y confiable en el diagnóstico de brucelosis” (Mosquera, Bernal, Muskus y Berdugo, 2008, p. 1505).

BRUCELOSIS EN EL ECUADOR

Un estudio realizado en el cantón El Carmen, perteneciente de la provincia de Manabí, para determinar la seroprevalencia de brucelosis bovina y la relación del aborto en edad reproductiva; consideraron a 183 animales en edad reproductiva, donde la clasificaron en tres grupos los cuales son de: 24-48, de 49 a 72 y mayores de 73 meses, consideraron intervalos de 24 meses, donde encontraron una seroprevalencia de la enfermedad de 5,46%, dando a conocer que un 20% de las fincas estudiadas se encontraban afectas con la enfermedad del

cantón, considerando que un 80% de las hembras bovinas enfermas presentaban antecedentes de abortos y apreciaron que las hembras con edades comprometidas entre 49 a 72 meses de edad presentaron mayor cantidad de abortos (Calderon et al., 2019, pp. 87-88).

Según Zambrano, Pérez y Rodríguez (2016) nos indica que en su investigación sobre “Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los factores de riesgo”, consideraron a 2369 animales, de los cuales 52 fueron positivos con la técnica Rosa de Bengala siendo como prueba tamiz, y 49 fueron positivos utilizando la prueba de ELISA competitivo, teniendo como resultado una prevalencia de 2,19%. Consideraron también que existe mayor presencia de brucelosis en animales mayos de 5 años, como también en relación al sexo teniendo mayor riesgo las hembras.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1.MATERIALES

3.1.1. Físicos

Tabla 1. *Materiales Físicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Hojas de papel bond	Unidad	50
Esferos	Unidad	1
Mandil	Unidad	1
Laptop	Unidad	1
Hojas guías para la técnica de ELISA	Unidad	5
Marcadores	Unidad	1
Gorra desechable	Unidad	20
Guantes	Unidad	100
Puntas azules	Unidad	100
Puntas amarillas	Unidad	400
Puntas blancas	Unidad	100
Multicanal de 12 puntas de 300 ul	Unidad	1
Pipeta de 1000ul	Unidad	1
Pipeta de 10 ul	Unidad	1
Tubos tapa roja de 10cc	Unidad	80
Equipo de ELISA	Unidad	1

3.1.2. Biológicos

Tabla 2. *Materiales Biológicos*

Descripción	Cantidad
Animales	89
Sangre	8ml
Suero	1.5ml
Pools	9 unidades
Estudiantes	1

3.1.3. Químicos

Tabla 3. *Materiales Químicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Agua destilada	MI	17,6
Solución de parado	MI	1,2
Solución de revelación	MI	1,2
Diluyente 2	MI	2,28
Diluyente 3	MI	1,8
Conjugado concentrado (10X)	MI	0,2
Solución de lavado concentrada (20X)	MI	4,4
Control positivo	UI	10
Control negativo	UI	10
Microplaca sensibilizad con el LPS de <i>Brucella</i> (1*8)	tira	2

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Diseño estadístico

Este trabajo de investigación corresponde a un estudio epidemiológico de tipo descriptivo, prospectivo de corte transversal y causal, ya que en primera estancia de determina la presencia de los anticuerpos para el agente etiológico y luego se calcula la prevalencia del mismo en la población de estudio.

3.2.2. Selección y tamaño de la muestra

Para este trabajo de investigación, se consideró a 89 animales entre hembras y machos, con un peso promedio entre 800gr a 1000gr destinados a ser faenados y ser comercializados en el mercado del cantón Paute.

3.2.3. Obtención de muestras sanguíneas

Para la recolección de la muestra, se realizó de manera directa en el momento que el animal es desangrado, que se realiza en dos métodos: el primero es el corte directo que se realiza a nivel del cuello con sangre de la arteria carótida o vena yugular, y el segundo método es mediante la extracción del globo ocular con sangre de la arteria carótida interna o externa, la toma de la muestra dependerá de la técnica que utilice el faenador del animal. Las muestras de sangre fueron recolectadas en un tubo de tapa roja de 10cc que ya se encuentra previamente ya identificada de acuerdo a su código (provincial, cantonal y parroquial del país), y posteriormente colocadas en un cooler que ya se encuentra con gel congelado para mantener la temperatura de las muestras recolectadas.

La muestra fue transportada al laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana, para ser centrifugada por 5-7 minutos a 2500 revoluciones por minuto, para después recolectar el suero sanguíneo mediante el uso de una pipeta de 100ul y ser conservada a refrigeración.

Ya identificado a los sueros sanguíneos se realizó los pools, en lo que consiste en identificar a 10 sujetos y extraer 50ul de cada individuo y colocar en un vacutainer de 2cc para que se homogenice la muestra de los 10 sujetos y posteriormente ser conservada en refrigeración.

3.2.4. Procedimiento para realizar la técnica de ELISA indirecto

Se realizó de acuerdo al procedimiento que viene en el kit de ELISA indirecto de multiespecies de Innovative Diagnostics.

Primer paso: distribuyó.

- 190 ul de Diluyente 2 en cada pocillo
- 10ul de control negativo en los pocillos A1 y B1.
- 10 ul de control positivo en los pocillos C1 y D1.
- 10 ul de cada muestra o mezcla de 10 sueros a analizare en cada uno de los pocillos restantes.

Segundo paso: se incubo por 45 minutos a temperatura ambiente.

Tercer paso: se lavó 3 veces cada pocillo con 300 ul de solución de lavado.

Cuarto paso: se preparó el conjugado de concentrado 10X al 1:10 con el Diluyente 3.

Quinto paso: se distribuyó 100 ul de conjugado en todos los pocillos.

Sexto paso: se incubó 30 minutos (+ 3 minutos) 21 °.

Séptimo paso: se lavó 3 veces cada pocillo con 300 ul de solución de lavado.

Octavo paso: se distribuyó 100 ul de solución de revelación en cada pocillo.

Noveno paso: se incubó 15 minutos (+ 2 minutos) 21 °C (+ 5°C) en la oscuridad.

Decimo paso: se distribuyó 100 ul de solución de parada en cada pocillo para detener la reacción.

Décimo primer paso: se procedió a colocar las microplacas sensibilizadas en el equipo de ELISA con una densidad óptica de 450 nm.

3.2.5. Variables del estudio

3.2.5.1. Variables dependientes

Tabla 4. *Variables dependientes: prevalencia de anticuerpos mediante ELISA indirecto*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Prevalencia de anticuerpos cobayos.	Suero sanguíneo en Anticuerpos	Volumen de suero Medición de anticuerpos.	MI de Densidad óptica

3.2.5.2. Variables independientes

Tabla 5. *Variables independientes: Animales*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Cobayos en producción	Cobayos	Número de animales (machos-hembras)	Número

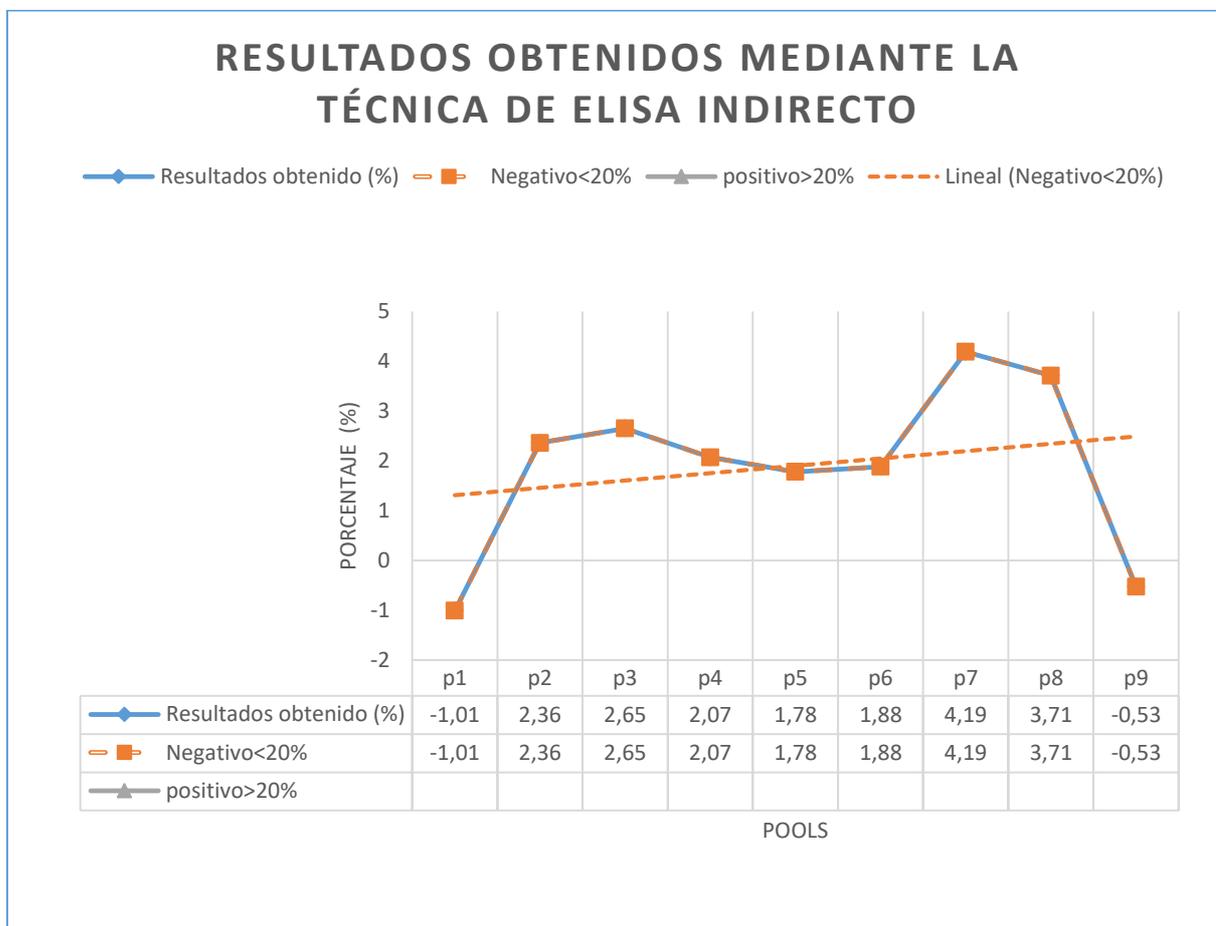
3.3. CONSIDERACIONES ÉTICAS

En el presente trabajo de investigación no se considera la ética, ya que no se dirige al sufrimiento del animal al momento del muestreo sanguíneo de los cobayos, ya que son animales de faenamiento para el consumo en el mercado de Paute.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1.RESULTADOS

Figura 1: Resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA indirecto



Fuente: Diana Peralta

Para la interpretación de los resultados obtenidos en el trabajo de investigación para determinar la prevalencia de *Brucella abortus* en cobayo de producción, se consideró la tabla de interpretación que viene en el interceptum del kit de ELISA indirecto de multi-especies que es lo siguiente:

- El valor es menor o igual al 20% se considera como negativos.
- El valor es mayor al 20% se considera como positivos.

En la investigación realizada se trabajó con 9 pools, teniendo como resultado que todos los pools estudiados tiene una baja carga de antígenos. Por lo tanto, se consideran

negativos de acuerdo a la casa comercial donde se adquirió el kit de ELISA. Sin embargo, se puede determinar que el pool p7 tiene 4,19%, es decir, presenta una mayor cantidad de antígenos adheridos en el pocillo, en comparación con los demás pools, como también un resultado de -1,01% de antígenos presentes en el pool p1.

Si se considera la prevalencia de la enfermedad presente el país, se baja, ya que en un estudio realizado por AGROCALIDAD(2009) considera que hay una seroprevalencia 6% a nivel nacional.

De acuerdo con M. F. Karim et al. (2019) en su estudio realizado para ver cambios histopatológicos de brucelosis en cobayas infectadas experimentalmente, utilizaron a esta especie debido a su susceptibilidad con el patógeno en comparación con otros animales de laboratorio tales como: ratas, ratones, monos y ovejas. Para llevar a cabo el proceso inocularon la bacteria obtenida de las membranas fetales abortadas de hembras bovinas, para después aplicarlas a los animales de estudio y para determinar la presencia de la enfermedad realizaron la prueba Rosa de Bengala, confirmando que los animales eran positivos a brucelosis. Y, por último, las cobayas fueron sacrificadas para realizar una necropsia. En comparación con el estudio realizado en la misma especie mediante la técnica ELISA indirecta, la presencia de brucelosis no supera el 20% de sp, por lo tanto, se consideran que los resultados son negativos en todos los pools.

De acuerdo con Cabrera, Silva, Izquierdo y García (2005) que la prevalencia de brucelosis en bovinos en Cuba, realizaron este trabajo de investigación agruparon para mezclar 10 sueros en igual proporción, donde utilizaron ELISA DAVIH BRU 2, teniendo una especificidad de 99,65%, en la cual se identificaron los sueros positivos de brucella en sus 3 mezclas e individuales; teniendo en cuenta que la mezcla de sueros no afecto la sensibilidad y especificidad de la técnica, considerando que también en este estudio realizaron la técnica de la Rosa de Bengala, en la que está detecto a más animales

positivos del estudio, considerando los resultados obtenidos concluyeron que la prevalencia de la enfermedad es menor o igual al 2%, y si le comparamos con el trabajo de investigación, utilizado con especie estudiada a los cobayos del cantón Paute, en la cual también se realizó la mezcla de sueros de 10 animales en igual proporción, y los resultados que se obtuvieron fueron de negativos, con un promedio de 1,9% de anticuerpos presentes, por lo que la prevalencia es nula.

Tabla 6. *Prevalencia de Brucella abortus en cobayos del cantón Paute.*

Especie	Nº de animales	Nº de pools	Promedio de los resultado (% spp)	Prevalencia	
Cobayos	89	9	1,9	Alta	Baja X

Autoría propia

Puesto que, en varias investigaciones, para estudiar la enfermedad de *Brucella spp.* o *Brucella abortus*, han tenido que ser animales criados en laboratorios, para posteriormente ser inoculados con la enfermedad, puesto que a la especie más susceptible para la brucelosis es el conejillo de indias, en comparación con otras especies de laboratorio. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de la enfermedad en cobayos, puesto que los resultados obtenidos son negativos utilizado, únicamente la técnica de ELISA indirecta.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Como se puede apreciar tanto en la figura 1, los resultados obtenidos para determinar *Brucella abortus* en cueros de producción mediante la técnica de ELISA indirecta, en todos los pools que son de 10 individuos cada pool, resultó que es menor al 20% considerando que en el interceptum nos da a entender que todos los pools son negativos.

El uso de la agrupación de sueros en el sistema, no afectó a la sensibilidad y especificidad de los sueros estudiados.

El 100% de población que se consideró para este trabajo de investigación resultó que la prevalencia de *Brucella abortus* en cobayos de producción es nula.

La carga de anticuerpos de baja, considerando que la alimentación de estos animales es la misma que la de los bovinos, teniendo en cuenta que los propietarios de los animales permanecen en contacto con otras especies que pueden ser portadores de la enfermedad.

El uso de la mezcla de sueros para realizar un estudio epidemiología, en relación a la presencia o ausencia de la enfermedad, resultó eficiente desde el punto de vista económico, ya que en caso de haber tenido resultados positivos únicamente se hubiera vuelto a realizar al pool sospechoso, y no a todos los animales individualmente.

5.2. RECOMENDACIONES

Tener en cuenta la seguridad del animal y del operador durante la utilización de laboratorios y evitar en lo máximo posible el estrés que se le podría causar al paciente en la toma de muestra.

Se recomienda realizar más estudios de la enfermedad con esta especie animal, ya que no hay información como tal.

6. BIBLIOGRAFIA

- AGROCALIDAD. (2009). Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina. Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro - Agrocalidad. Quito, Ecuador.
- Ancha P. Y Szyfres B. (2001) *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 3° edición. Organización Panamericana de la Salud- Organización Mundial de la Salud. Washington D.C.-EUA
- Amaguaña L. (2012) *Estudio de factibilidad para la creación de una empresa de producción y comercialización de cuyes a través de la asociativa de los pequeños productores de la parroquia rural Ascázubi del cantón Cayambe, Provincia de Pichincha*. Universidad Central del Ecuador. Quito.
- Álvarez N., Díaz M. y Ortiz M. (2015) *Brucelosis, una zoonosis frecuente*. Revista de medicina e investigación. 3(2). pp(129-133) Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-brucelosis-una-zoonosis-frecuente-S2214310615000382>
- Avilés D., Martínez A., Landi V., y Delgado J. (2014). *El Cuy (Cavia porcellus): Un Recurso de Interés Agroalimentario*. *Animal Genetic Resources*, 55, 87-91.
- BIO-RAD. (2014) *DETECCION DE LOS ANTICUERPOS ANTI-BRUCELLA*. Recuperado de https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/es/63231_881168_ES.pdf
- Cabrera P.C., Silva C.E., Izquierdo M.M. y García M.C. (2005) *Empleo de Elisa DAVIH BRU 2 en el diagnóstico serológico de la Brucelosis Bovina (Use of Elisa DAVIH BRU 2 in I diagnose serológico of the Bovine Brucelosis)* Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, 6(5), 1-34. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617216005>

- Calderon M.J., Bulnes G.C., Zambrano A.M., Delgado D.M., De La Cruz Veliz L. y Rezabala Z.P. (2019) *Seroprevalencia de brucelosis bovina y su relación con el aborto, en edad reproductiva en el cantón El Carmen, provincia Manabí, Ecuador*. Revista de las Agrotendencia “La Técnica”, 1, 87-96.
- Cardoso, A., Y Tessari, E. (2003). *Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte*. Arquivos do Instituto Biológico.
- Chajon A.D. (2015) *Estudio retrospectivo sobre casos de brucelosis bovina en Guatemala durante los años 2010 al 2013, tomando como bases las muestras procesadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia* (Tesis de grado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Recuperado de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/734/1/Tesis%20Med%20Vet%20Daniel%20Ch.pdf>
- Coelho A., García D.J., y Coelho A.C. (2014) *Brucelosis en pequeños rumiantes: etiología, epidemiología, sintomatología, diagnóstico, prevención y control*. Revista Electrónica de Veterinaria, 15(5), 1-31. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63633881002.pdf>
- Corbel M. (2006) *Brucellosis in humans and animals*. World Health Organization. Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=nCcGbURUDMgC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Corbel,+M.+J.+\(2006\).+Brucellosis+in+humans+and+animals+Gen%C3%A9ve:+WHO+Press.&ots=G314OMbVA-&sig=_jfMR2hGSQuFvUT5ORbBEEOMLtA#v=onepage&q=Corbel%20M.%20J.%20\(2006\).%20Brucellosis%20in%20humans%20and+animals%20Gen%C3%A9ve%3A%20WHO%20Press.&f=false](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=nCcGbURUDMgC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Corbel,+M.+J.+(2006).+Brucellosis+in+humans+and+animals+Gen%C3%A9ve:+WHO+Press.&ots=G314OMbVA-&sig=_jfMR2hGSQuFvUT5ORbBEEOMLtA#v=onepage&q=Corbel%20M.%20J.%20(2006).%20Brucellosis%20in%20humans%20and+animals%20Gen%C3%A9ve%3A%20WHO%20Press.&f=false)

- Cordero P.E. (2016) *Análisis de la sensibilidad y especificidad del leucograma en el hemograma autorizado*. Universidad de las Américas. Quito
- Cornejo M., Zorrilla D., Burmúdez N., Estacio J., Arrazola I., Carrera F., Alaya C., Narváez N., Bermeo R., Yépez F., Feria M. y Llerena F. (2013) *Proyecto: DIPECHO VII “IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA E ANÁLISIS DE VULNERABILIDADES A NIVEL CANTONAL”-PAUTE*.
- Freer E., Castro A.R. (2001) *Brucella: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos*. Revista Costa Rica Ciencia Médica. Vol. 22. Sitio web https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100008
- García H. (2011). *Estudio de factibilidad para la construcción de una granja, dedicada al cuidado, crianza y comercialización de cuyes en el inga, Provincia de Pichincha, utilizando para su alimentación el forraje verde hidropónico*. Universidad Politécnica Salesiana. Quito.
- Guzmán A., Pachón R. Y León R., (2005) *Estudio epidemiológico retrospectivo de enfermedades zoonóticas del 1997 a 2003 en Colombia (parte I)*. Revista de Medicina Veterinaria, 22. Sitio web <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1146&context=mv>
- Gwatkin, R.(1932) *The prevention of Brucella abortus infection in guinea-pigs: the efecto of convalescent and of hyperimmune serum*. Revista de enfermedades infecciosas, 50(2), 111-118.
- Hensel M. E y Arenas-Gamboa A.M. (2018) *A Neglected Animal Model for a Neglected Disease: Guinea Pigs and the Search for an Improved Animal Model for Human Brucellosis*. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 9. doi: [10.3389/fmicb.2018.02593](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02593)

- Institute for International Cooperation in Animal Biologics (2009) *Brucellosis*.
- Institute for International Cooperation in Animal Biologics (2009) *Brucellosis bovina: Brucella abortus*.
- Instituto Nacional de Seguridad e higiene en el trabajo (2013) *Brucella spp*. Recuperado de <https://www.insst.es/documents/94886/353495/Brucella+spp.pdf/c6c266e1-f32a-4975-ae56-1cc9e6224672>
- Jawetz, Melnick y Abelderg (2011) *Microbiología médica*. 25° edición. Mc Graw-Hill. México D.F.
- Mablesin H.E., Okello A., Picozzi K., y Welburn S. C. (2014) *Neglected Zoonotic Diseases- The long and Winding Road to Advocacy* . US National Library of Medicine National Institutes of Health, 8(6). doi: 10.1371/journal.pntd.0002800
- MAG-SESA. (1999). Prevención y control de la brucelosis bovina en Ecuador. Ecuador: Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.
- Ministerio de la salud-Presidencia de la Nación. (2013) *Enfermedades infecciosas brucelosis. Diagnóstico de Brucelosis*. Argentina.
- M. F. Karim, A. A. Maruf, F. Yeasmin, N. M. Shafy, , A. H. N. A. Khan, A. K. M. A. Rahman, ... M. S. Rahman (2019) Histopathological changes of brucellosis in experimentally infected guinea pig. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 17 (1), 89-96 Recuperado de <http://www.bjvm.org/index.php/home/article/view/35/25>
- Mosquera C.X., Bernal V.C., Muskus L.C. y Berdugo G.J. (2008) *Detección de Brucella abortus por PCR en muestras de sangre y leche de vacunos*. Revista MVZ Córdoba, 13(3), 1504-1513. Recuperado de <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/382/450>

Murray R. Spiegel y Larry J. Stephens. (2009) *Estadística*. 4ª edición. Mc Graw-Hill. México D.F.

Organización Mundial de Sanidad Animal (2018) *Brucelosis (Brucella abortus, B. Melitensis y B. Suis) (Infección por Brucella abortus, B. Melitensis y B. Suis)* Recuperado de https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELL.pdf

Organización Mundial de Sanidad Animal (2020) *Brucelosis*. Recuperado de <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/brucelosis/>

Ortega M.M. (1997) *Evaluación de la reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico de brucelosis, estimando el espectro de infección en humanos en una zona endémica* (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Nuevo León. México. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/76595353.pdf>

Pérez S.M. (2014) *Aplicación de nuevas estrategias en el diagnóstico y profilaxis de la brucelosis producida por Brucella melitensis en rumiantes domésticos* (Tesis doctoral) UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, España. Recuperado de <https://www.visavet.es/data/tesis/estrategias-diagnostico-profilaxis-brucelosis-brucella-melitensis-rumiantes-domesticos.pdf>

Rivas O. (2015) *Brucella abortus: patogénesis y regulación genética de la virulencia*. Revista Tecnología en Marcha, 28(2). Recuperado de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0379-39822015000200061#B19

- Rivers R., Andrews E., Gonzales Smith A., Donoso G. y Oñate a.(2006) *Brucella abortus: inmunidad, vacunas y estrategia de prevención basadas en ácidos nucleicos*. Archivos de medicina veterinaria, 38(1), 7-18.
- Saldarriaga Omar A., Rugeles María T. (2002) *Inmunobiología de la infección por brucella spp: Fundamentos para una estrategia vacunal*. Revista Colombiana Ciencias Pecuarias, 15(2), 188-197.
- Sánchez C. (2002) *Crianza y Comercialización de cuyes*. Lima, Perú. RIPALME
- Tizard I. (2009) *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. 8º edición. ELSILVIER. España.
- Vargas F. (2003) *Situación epidemiológica de la Brucelosis en Venezuela*. Gaceta de Ciencias Veterinarias, 8(2), 69-79.
- Vivas J. y Carballo B. (2009) *Especies Alternativas: Manual de crianza de cobayos (Cavia porcellus)*. Universidad Nacional Agraria Facultad de Ciencia Animal. Managua, Nicaragua.
- Zambrano A.M., Pérez R.M. y Rodríguez V.X. (2016) *Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los factores de riesgo*. Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú, RIVEP, 27(3), 607-617. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371847509022.pdf>

7. ANEXOS

Tabla 7 : como están conformado cada pool de Paute

p1	010552001	p2	010552011	p3	010552023	p4	010552035
	010552002		010552012		010552025		010552036
	010552003		010552014		010552026		010552037
	010552004		010552015		010552027		010552038
	010552005		010552016		010552029		010552039
	010552006		010552017		010552030		010552040
	010552007		010552018		010552031		010552041
	010552008		010552020		010552032		010552042
	010552009		010552021		010552034		010552043
	010552010		010552022		010552035		010552044
p5	010552046	p6	010552067	p7	010552077	p8	
	010552047		010552068		010552078		010552087
	010552048		010552069		010552079		010552088
	010552050		010552070		010552080		010552089
	010552051		010552071		010552081		010552090
	010552056		010552072		010552082		010552091
	010552060		010552073		010552083		010552092
	010552063		010552074		010552084		010552093
	010552064		010552075		010552085		010552094
	010552065		010552076		010552086		010552096

Fuente: Diana Peralta

Tabla 8 : distribución de muestras de los pools

	1	2
A	posit.	p5
B	posit.	p6
C	negat.	p7
D	negat.	p8
E	p1	p9
F	p2	
G	p3	
H	p4	

Fuente: Diana Peralta

Tabla 9 : resultados obtenidos en el equipo de ELISA de los pools

	1	2
A	1,241	0,132
B	1,060	0,133
C	0,098	0,157
D	0,129	0,152
E	0,103	0,108
F	0,138	
G	0,141	
H	0,135	

Fuente: Diana Peralta

Foto 1: rotulación de tubos de tapa roja



Foto 2: Muestras sanguíneas

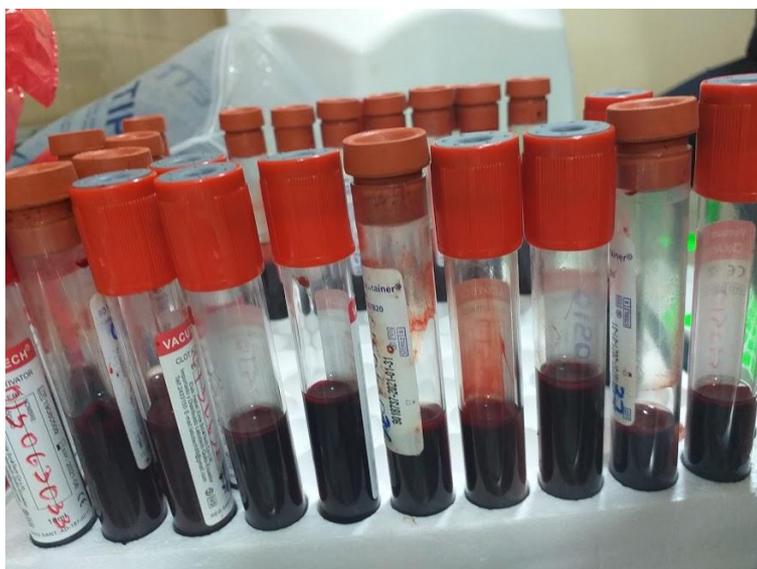


Foto 3: suero sanguíneo de cuyos



Foto 4: kit de ELISA indirecto

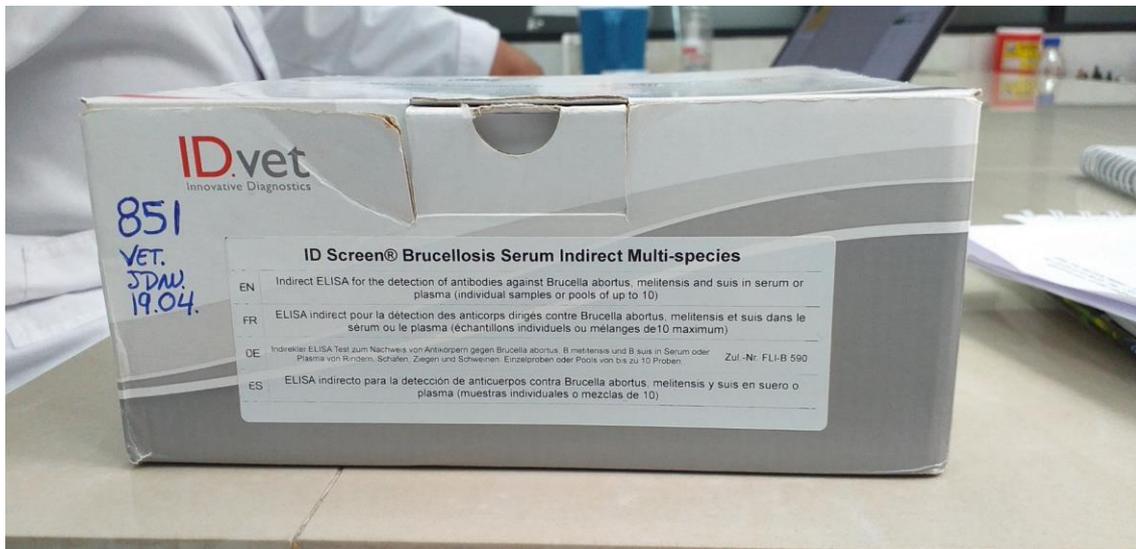


Foto 5: *micro placas previas a la lectura en el equipo de ELISA*

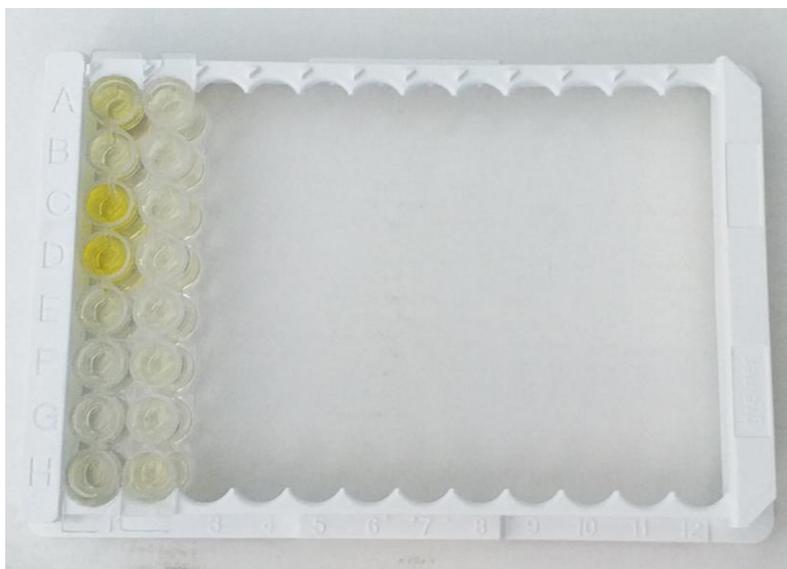


Foto 6: *equipo de ELISA y las micro placas sensibilizadas*

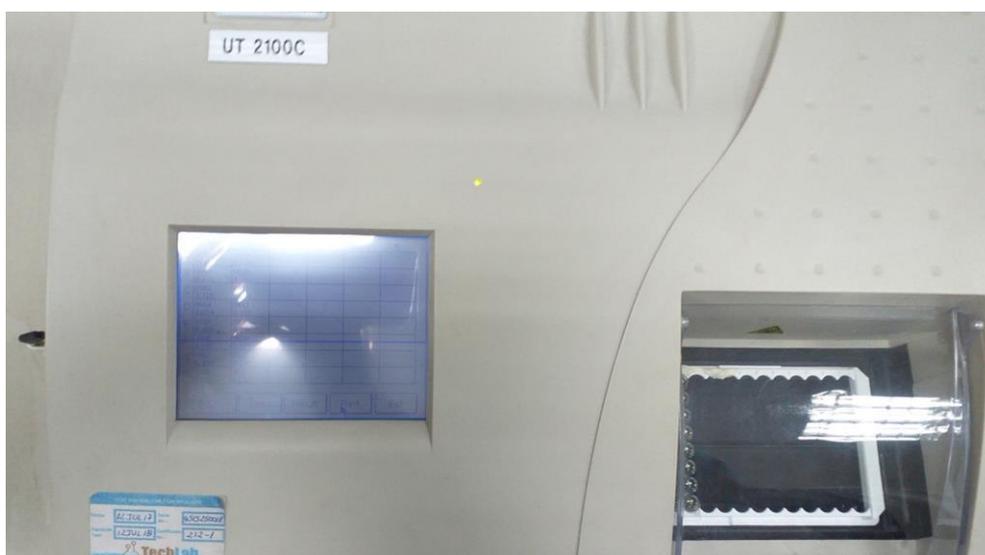


Foto 7: *tesista pipeteando los sueros de cobayos*



Hoja de trabajo de ELISA indirecto

FECHA DEL ELISA: _____ N° DE MUESTRAS: _____

ESPECIE/ES: _____ PULLES: _____

SUERO: _____

ENFERMEDAD: _____

	HORA	OK
Incubación (45mint)		
Primer lavado (3 veces)		
Conjugado incub. (30mint)		
Segundo lavado (3 veces)		
Solución de revelación incub. (15mint)		
Solución de parada		
Lectura		

DISTRIBUCION DE MUESTRAS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

NOTAS: _____

RESULTADOS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

CALCULOS

	FORMULA	RESULTADOS
VALOR MEDIA (POSIT.)	$DO_{cp} = ((C1+D1)/2) > 0.350$	
VALOR MEDIA (NEGT.)	$DO_{cn} = (A1+B1)/2$	
MEDIA DE LOS CONTROLES	$DO_{cp}/DO_{cn} > 3$	
CADA MUESTRA	$S/P\% = ((DO_{muestra} - DO_{cn}) / (DO_{cp} - DO_{cn})) * 100$	