



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 BIOQUÍMICA Y FARMACIA DE LA ESPOCH”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: GINA MARIBEL OÑATE ORTIZ

TUTOR: DR. CARLOS ESPINOZA

Riobamba - Ecuador

2016

©2016, Gina Maribel Oñate Ortiz

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo a 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 trabajo de investigación: “**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp* EN MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA DE LA ESPOCH**”, de responsabilidad de la señorita Gina Maribel Oñate Ortiz, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Carlos Espinoza

DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

.....

.....

Dra. Sandra Escobar

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

Yo, Gina Maribel Oñate Ortiz 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.

Gina Maribel Oñate Ortiz

180425426-4

DEDICATORIA

A Dios por ser mi luz y mi fuerza en cada momento, por sus bendiciones plasmadas en el trayecto de mi vida, él mi inspiración de seguir adelante. Su infinito amor se convirtió en mi más grande fortaleza en momentos de felicidad y dicha, pero aún más en aquellas situaciones que me incitaban a desfallecer, a él con infinito amor dedico este logro alcanzado por medio de su bendición.

A mi padre Ángel por su gran esfuerzo y apoyo incondicional por ser quien me incentiva a cumplir mis sueños.

A mis tíos Carlos y Zulia por sus buenos sus consejos y palabras sabias que me han motivado a seguir adelante.

A Teresita por ser quien ha estado siempre al pendiente de mí a pesar de la distancia.

A todos ellos les dedico este trabajo.

Gina Maribel

AGRADECIMIENTO

El más noble agradecimiento al creador de la vida, Dios, por ser mi guía en este trabajo porque con su infinito amor me demuestra que él tiene mejores caminos para mi vida.

Mis más sinceros agradecimientos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Facultad de Ciencias, en especial a la Escuela de Bioquímica y Farmacia donde tuve la oportunidad de conocer personas especiales, mis profesores, quienes me brindaron sus conocimientos durante mi carrera profesional.

A mi familia por demostrarme que con lucha y perseverancia se puede triunfar en la vida.

A mi tutor Dr. Carlos Espinoza y colaboradora Dra. Sandra Escobar por su conocimiento y experiencia durante el desarrollo de esta investigación.

A mis amigas/os que con cada ocurrencia hicieron que esta etapa de mi vida sea llena de lindos recuerdos que estarán impregnados por siempre en mi mente y en mi corazón.

Y a todas aquellas personas que estuvieron a mí alrededor siempre con una palabra de aliento.

A todos ellos, mil gracias.

Gina Maribel

RESUMEN

En la presente investigación se expone un protocolo de diagnóstico de Brucelosis Humana con el objetivo de detectar anticuerpos contra *Brucella spp* en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se aplicó una encuesta previamente elaborada y validada para la recolección de datos personales y epidemiológicos, previo a la obtención de la muestra sanguínea se les facilitó una carta de aceptación del consentimiento informado. Una población de 140 estudiantes se sometió a un tamizaje con la prueba rápida con antígeno Rosa de Bengala (RB); una prueba serológica semicuantitativa, en una placa de vidrio limpia en donde se colocaron 40 µl de suero y 40 µl de antígeno, homogenizándolo con un aplicador, seguidamente la placa se le agitó con movimientos rotatorios por cuatro minutos, los resultados obtenidos se confirmaron con el ensayo de microaglutinación 2-Mercaptoetanol únicamente a 16 estudiantes que cumplían factores de riesgo en la encuesta aplicada; observando los resultados macroscópicamente el tamizaje detectó 0% de pacientes positivos, concluyendo que los estudiantes de la escuela de Bioquímica y Farmacia no están infectados con el agente patógeno, por ende los universitarios han consumido productos lácteos que están libres de la bacteria, y se recomienda realizar el mismo estudio en una zona ganadera de Chimborazo en donde exista el consumo de productos lácteos sin pasteurizar para de esta manera obtener datos más específicos de la provincia.

Palabras clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <MICROBIOLOGÍA>, <ZONOSIS (ENFERMEDAD)>, <BRUCELOSIS HUMANA>, <PATOLOGÍAS BACTERIANAS>, <ROSA DE BENGALA (PRUEBA DE AGLUTINACIÓN)>, <2 MERCAPTO-ETANOL (PRUEBA CONFIRMATORIA)>

SUMMARY

In the present investigation a protocol of diagnosis of Human Brucellosis is presented with the objective of detecting antibodies like *Brucella spp* in blood samples of the students of the School of Biochemistry and Pharmacy of the Higher Polytechnic School of Chimborazo. A previously prepared and validated survey was applied for the collection of personal and epidemiological data, prior to obtaining the blood sample, a letter of acceptance of informed consent was provided. A population of 140 students underwent a rapid screening test with Rose Bengal antigen (RB); a semi-quantitative serological test was performed on a clean glass plate in which 40 µl of serum and 40 µl of antigen were placed, homogenized with an applicator, then the plate was shaken for four minutes with rotational movements, the results obtained were confirmed with Micro-agglutination test 2- Mercapto-ethanol only to 16 students who fulfilled risk factors in the applied survey; observing the results macroscopically the screening detected 0% of positive patients, concluding that the students of the School of Biochemistry and Pharmacy are not infected with the pathogen, therefore the university students have consumed dairy products that are free of the bacteria, and it is recommended to carry out the same study in a cattle-raising area of Chimborazo where there is consumption of unpasteurized dairy products in order to obtain more specific data from the province.

KEY WORDS: <ENGINEERING SCIENCE AND TECHNOLOGY >, <MICROBIOLOGY>, <ZOOZOSES (DISEASE)>, <HUMAN BRUCellosis>, <BACTERIAL PATHOLOGY>, <BENGAL ROSE (AGGLUTINATION TEST)>, < 2- MERCAPTO-ETHANOL (CONFIRMATORY TEST)>

ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1 Zoonosis.....	5
<i>1.1.1 Concepto</i>	<i>5</i>
1.2 Bacteria <i>Brucella spp</i>	6
<i>1.2.1 Etiología.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.2 Taxonomía y especies</i>	<i>7</i>
<i>1.2.2.1 Taxonomía.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.2.2 Especies.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.3 Características morfológicas</i>	<i>8</i>
<i>1.2.3.1 Estructura de <i>Brucella</i></i>	<i>8</i>
<i>1.2.4 Resistencia y Supervivencia</i>	<i>9</i>
<i>1.2.5 Serotipos</i>	<i>10</i>
1.3 Brucelosis	11
<i>1.3.1 Brucelosis animal.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.1.1 Transmisión.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.1.2 Período de incubación.....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.1.3 Síntomas</i>	<i>12</i>
<i>1.3.1.4 Patologías</i>	<i>12</i>
<i>1.3.1.5 Tratamiento.....</i>	<i>13</i>
<i>1.3.1.6 Prevención.....</i>	<i>13</i>
<i>1.3.1.7 Morbilidad y mortalidad</i>	<i>14</i>
<i>1.3.2 Brucelosis humana.....</i>	<i>15</i>
<i>1.3.2.1 Trasmisión.....</i>	<i>15</i>
<i>1.3.2.2 Período de incubación.....</i>	<i>16</i>
<i>1.3.2.3 Síntomas</i>	<i>16</i>
<i>1.3.2.4 Patologías</i>	<i>16</i>
<i>1.3.2.5 Complicaciones</i>	<i>17</i>
<i>1.3.2.6 Tratamiento</i>	<i>18</i>
<i>1.3.2.7 Prevención.....</i>	<i>20</i>

1.3.2.8	<i>Morbilidad y mortalidad</i>	20
1.4	Programas de control y erradicación	21
1.5	Formas de Detección	22
1.6	Método Delphi	26

CAPÍTULO II

2.	METODOLOGÍA	27
2.1	Lugar de la investigación	28
2.2	Materiales, equipos y reactivos	28
2.2.1	<i>Materiales y equipos</i>	28
2.2.2	<i>Reactivos</i>	29
2.3	Técnicas y Métodos	30
2.3.1	<i>Técnica de toma de muestras de sangre</i>	30
2.3.2	<i>Procesamiento de muestras</i>	30
2.3.2.1	<i>Prueba rápida en placa con antígeno Rosa de Bengala</i>	30
2.3.2.2	<i>Aglutinación lenta en tubo en presencia de 2-Mercaptoetanol</i>	31

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1	Resultados de la encuesta epidemiológica	32
3.2	Resultados de las pruebas serológicas	40
	RECOMENDACIONES	43

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1-1 Clasificación taxonómica del género <i>Brucella</i>	7
Tabla 2-1 Especies de <i>Brucella</i> , hospedadores conocidos y biovariedades	7
Tabla 3-1 Supervivencia de <i>Brucella</i> en el medio ambiente	10
Tabla 4-1 Serotipos de <i>Brucella</i>	10
Tabla1-3 Género de los pacientes.....	32
Tabla 2-3 Edad de los estudiantes	33
Tabla 3-3 Procedencia de los estudiantes	34
Tabla 4-3 Consumo de productos lácteos sin pasteurizar	34
Tabla 5-3 Consumo de productos lácteos sin pasteurizar	35
Tabla 6-3 Consumo de queso fresco.....	36
Tabla 7-3 Consumo de carne de res.....	38
Tabla 8-3 Resultados de la prueba serológica Rosa de Bengala realizada en los estudiantes..	40
Tabla 9-3 Resultados de las pruebas serológicas RB y 2ME realizada en los estudiantes	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1-1 Bacteria <i>Brucella spp</i>	6
Figura 2-1 Membrana externa de la pared celular de <i>Brucella</i>	8

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1-3 Género de los pacientes.....	33
Gráfico 2-3 Lugar de adquisición de la leche que consume.....	35
Gráfico 3-3 Lugar de adquisición de queso fresco.....	37
Gráfico 4-3 Individuos que consumen carne de res	37
Gráfico 5-3 Lugar de adquisición de la carne de res.....	38
Gráfico 6-3 Individuos que tienen ganado vacuno	39
Gráfico 7-3 Contacto directo con el ganado vacuno	39

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Páginas
Fotografía 1-3 Materiales para la extracción de sangre	56
Fotografía 2-3 Extracción de sangre	56
Fotografía 3-3 Centrifugación de las muestras.....	56
Fotografía 4-3 Separación del suero sanguíneo.....	57
Fotografía 5-3 Suero sanguíneo en los eppendorf	57
Fotografía 6-3 Sueros sanguíneos en congelación.....	57
Fotografía 7-3 Reactivos Prueba Rosa de Bengala	58
Fotografía 8-3 Pruebas control Rosa de Bengala	58
Fotografía 9-3 Análisis de muestras con reactivo Rosa de Bengala	58
Fotografía 10-3 Homogenización de las muestras on el Reactivo Rosa de Bengala	59
Fotografía 11-3 Observación frente a una unidad de lectura para aglutinación.....	59
Fotografía 12-3 Reactivos para la prueba 2 Mercapto-etanol.....	59
Fotografía 13-3 Pruebas control para el reactivo 2- Mercapto-etanol	60
Fotografía 14-3 Análisis de muestras con el reactivo 2- Mercapto-etanol	60
Fotografía 15-3 Muestras de sueros en la estufa	60

INTRODUCCIÓN

Situación Problemática

Hace más de cien años la Brucelosis se le conoce como una enfermedad infectocontagiosa a nivel mundial, con una prevalencia determinada en ciertas áreas geográficas principalmente en el Mediterráneo, Asia Occidental, ciertos lugares de África y América. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4). Esta enfermedad afecta a los animales domésticos como también al ser humano, a la fauna silvestre y mamíferos marinos. (Zambrano et al., 2015: pp. 1-9). La diseminación de la enfermedad por el continente se dio por la introducción de animales infectados a América Latina, considerándola como una zoonosis (Ortiz, 2016 p. 14).

El 4% de los casos que efectivamente ocurren representa 500.000 nuevos casos de brucelosis humana por cada año según la OMS. Según las estadísticas oficiales no manifiestan el número exacto de individuos infectados anualmente debido al subdiagnóstico y subnotificación. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4).

En el año 1987-1992 en Argentina existió la seropositividad de la enfermedad con un resultado del 0,95 de la misma manera se realizó un estudio epidemiológico retrospectivo, se obtuvo el 1,4% de prevalencia en los donantes utilizando las Estadísticas del Banco de sangre Central de Corrientes. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4).

La enfermedad puede estar presente aun con la ausencia de síntomas, es por esto que el comité mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis llamo la atención por existir un valor limitado de pruebas serológicas en humanos expuestos repetidamente a *Brucella*. Por otro lado México informo legalmente el promedio de morbilidad de 6,98 casos por 100.000 habitantes en los años 1988 – 1993 registrándose casi 6.000 casos por año. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4).

Sin embargo en Perú se ha registrado 1.116 casos de Brucelosis Humana en el año 2004, en áreas geográficas más vulnerables, siendo el 95% de prevalencia en los casos notificados en el país consecuencia del consumo de leche de cabra sin pasteurizar. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4).

Siendo la Brucelosis una enfermedad contagiosa en Ecuador, desde el año 2007 se han ignorado 78 casos humanos, se han registrado 111 casos humanos en los años 1990-2007 según el Ministerio de Salud Pública (MSP), sin embargo el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos

(INEC) se ha registrado 152 personas internadas en los hospitales por Brucelosis entre los años 1995-2007. (Ron-Román, pp. 2-18).

En el año 2015 en la provincia de Manabí una ciudad altamente ganadera se realizó un estudio que demuestra una seroprevalencia de 1.06% en humanos vinculados con la ganadería y en mataderos, en otros estudios en provincias del noreste de Ecuador existió 1,88% de seroprevalencia igual en humanos. (Zambrano M, 2015, pp. 1-7)

En estudios recientes en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas perteneciente a Ecuador se presentó en una investigación de brucelosis humana que indica el 4,61% de seroprevalencia, debido a la actividad pecuaria y ganadera que ellos realizan esto se lo analizo en sueros sanguíneos de humanos mediante las pruebas Rosa de Bengala (RB) y la prueba de aglutinación Lenta en Tubo en presencia de EDTA (SAT- EDTA), recalcando que también se puede dar por la ingestión de productos lácteos contaminados del personal de trabajo en el área ganadera y consumidores. (Intriago H, 2015)

Muchos países han tenido éxito en la erradicación de la enfermedad y existen otros que están próximos a realizarla, la distribución es irregular y la incidencia variable, en Ecuador la prevalencia se encuentra entre 1,3-10,62%; por ello las provincias con una alta posibilidad de contraer la enfermedad son Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, con una prevalencia del 1,97 al 10,62%. (Ayala, 2013: p. 18)

Enfermedad que puede provocar patologías crónicas, como: complicaciones musculoesqueléticas, genitourinarias, complicaciones del sistema nervioso, cardiovasculares, digestivas, pulmonares y hematológicas. (Ramos, 2012, pp. 268-269).

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo detectar anticuerpos contra *Brucella spp* en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, la razón principal que hizo imprescindible investigar sobre la Brucelosis en los sueros de los mismos es por esta enfermedad que ha sido y está siendo un problema común y de gravedad en algunas partes del mundo.

Mediante esta investigación se puede aportar datos verídicos que ayuden a contribuir para el control y erradicación de la enfermedad, ofreciendo una información adecuada y sensibilizando a toda la población estudiantil que el consumo de productos lácteos sin pasteurizar procedentes de animales enfermos conlleva a la enfermedad conocida como Brucelosis Humana, sin embargo con las precauciones debidas el individuo puede tener una mejor calidad de vida.

Justificación de la investigación

La Brucelosis conocida como una zoonosis de distribución mundial, la patología en los humanos se encuentra íntimamente relacionado con la enfermedad en animales domésticos, la Brucelosis humana es de importancia para la salud pública debido a costos que genera la incapacidad física que causa en el enfermo, incluso las pérdidas secundarias ocasionadas por afectación a los animales (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 5).

La afectación a la salud humana puede llegar a provocar alteraciones óseas, nerviosas, e inclusive son causa de muerte, resultando un riesgo para el personal que maneja a los animales enfermos y por ende a los consumidores de productos y subproductos sin pasteurizar. (Agro calidad, 2009. p. 44).

La prevalencia global de la enfermedad en el hombre es desconocida (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 6). Sin embargo, en los países bien desarrollados todavía no se ha logrado su erradicación; la enfermedad varía con valores a 0.01 por 100.000 habitantes en países desarrollados, superando cifras en los países menos desarrollados con valores a 200 por 100.000 habitantes con una localización geográfica de Brucelosis Humana en estrecha relación a la distribución de Brucelosis Animal. (Instituto Nacional de Salud, 2009, pp. 3-4). Los países que indican mayor incidencia de Brucelosis son Argentina, México y Perú, seguidos de Colombia, Chile y Ecuador esto según indica la OMS.

Según la OMS afirmó que “la brucelosis es responsable de más enfermedades, miserias y pérdidas económicas que cualquier otra enfermedad animal conocida que afecte a los humanos”. Esta enfermedad no puede ser entendida, ni tratada mucho menos erradicada, si no es con trabajo interdisciplinario de Médicos, Veterinarios, Bioquímicos, Científicos y Biólogos, la población que está expuesta es primordial la vigilancia epidemiológica, ya que con un análisis temprano se puede evitar complicaciones colaterales a la cronicidad de la enfermedad y una rápida mejoría de salud para el paciente (Sriglio, 2007. p.20).

El Plan Nacional del Buen Vivir dentro del objetivo 3 indica que “La salud se plantea desde una mirada intersectorial que busca garantizar condiciones de promoción de salud y prevención de enfermedades que garanticen el adecuado fortalecimiento de las capacidades de las personas para el mejoramiento de su calidad de vida”. (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013. p. 137).

Con la importancia que radica en las consecuencias de esta patología, las mismas que pueden ser nefastas si no se interviene en el diagnóstico temprano; el crear datos verídicos los mismos

que servirán como herramienta que ayudarán a la nueva toma de decisiones para mejorar las actuales situaciones de dicha zoonosis.

La mayoría de los estudiantes son procedentes de diferentes lugares del país, las circunstancias obligan al universitario a independizarse, dentro de eso está su estado socioeconómico, por lo que el estudiante elige productos de menor costo dentro de estos se encuentra la leche cruda siendo un producto que está dentro de la canasta básica, de fácil acceso y sobre todo de bajo costo; conociendo que la provincia de Chimborazo produce 131.459 litros de leche diarios (Ministerio de Coordinación de la Producción, Empleo y Competitividad, 2011. p. 22).

En donde no se indica la calidad de leche que consumen los estudiantes, por lo cual se les considera que forman parte de la población de riesgo a contraer la enfermedad, por lo que se ha propuesto realizar un estudio de detección de anticuerpos contra *Brucella spp* en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Detectar anticuerpos contra *Brucella spp* en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

Objetivos Específicos

- Elaborar una encuesta para los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH con el fin de obtener datos epidemiológicos acerca de su relación con la patología.
- Validar la encuesta epidemiológica mediante el método Delphi.
- Determinar de forma predictiva anticuerpos contra *Brucella spp* mediante la prueba Rosa de Bengala en los sueros sanguíneos de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Confirmar la variación inmunológica para *Brucella spp* aplicando la prueba 2-mercaptopetanol.
- Capacitar a los estudiantes sobre las consecuencias que contrae la Brucelosis Humana.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Zoonosis

1.1.1 *Concepto*

Las enfermedades infecciosas son un grupo de patologías zoonóticas que de manera natural se transmiten de los animales enfermos a los seres humanos, por la exposición directa o indirecta a estos animales, siendo el mayor riesgo de contagio a las enfermedades zoonóticas, por el consumo de alimentos derivados de los mismos como son: carne, leche, huevos (Organización Mundial de la Salud).

Los agentes que pueden causar estas enfermedades zoonóticas son parásitos, virus o bacterias. El agente parasitario puede encontrarse fuera del animal, por ejemplo en la piel al que se denominado ectoparásito, o por dentro del animal, por ejemplo en el intestino que se le conoce como endoparásito, algunos son macroscópicos y otros microscópicos. Estos agentes conllevan a enfermedades leves que paulatinamente causan graves daños e incluso puede provocar la muerte del hospedador (Ministerio de Salud Buenos Aires República de Argentina).

Los agentes microscópicos son las bacterias por ser muy pequeñas, se pueden presentar de distinta forma como bastones, llamados bacilos; redondos denominados cocos; o de forma de espiral como las espiroquetas. Estos microorganismos pueden ser saprófitas y se encuentran en los seres vivos de manera normal sin causar ninguna patología; o patógenas las que conllevan a diferentes enfermedades infecciosas, dentro de las cuales se identifican las enfermedades ZONÓTICAS (Ministerio de Salud Buenos Aires República de Argentina).

Para evaluar y disminuir los riesgos existentes a estas enfermedades zoonóticas la OMS (Organización Mundial de la Salud) colabora con entidades asociadas de diferentes sectores, para los Estados Miembros y a la población entera, facilita recomendaciones acerca del modo de

reducir esos factores de riesgo que se dan, sobre todo en la cadena alimentaria (Organización Mundial de la Salud).

1.2 Bacteria *Brucella spp*

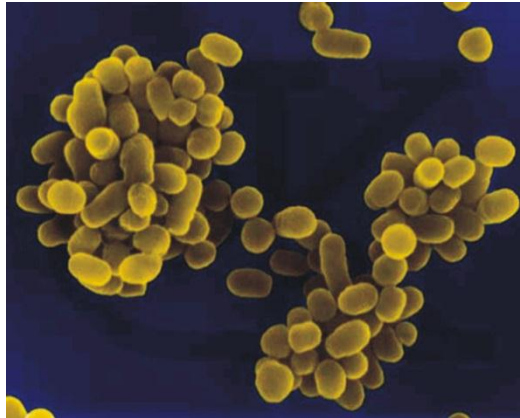


Figura 1-1 Bacteria *Brucella spp*
Fuente: (Carámbula; 2010)

La *Brucella spp* es una bacteria que puede persistir en las células fagocíticas, debido a que se le considera también como un parásito intracelular facultativo, la bacteria puede perdurar bajo el medio ambiente, en condiciones adecuadas ya sea a temperaturas bajas y húmedas, con un tiempo de larga duración. (Benítez, 2013, p. 2).

1.2.1 Etiología

La bacteria *Brucella* todas sus especies está asociada, generalmente la *B. abortus* provoca brucelosis en los bovinos, la *B. melitensis* en ovejas y cabras sin embargo la *B. ovis* puede causar en los carneros infertilidad, en perros la *B. canis*, en los roedores la *B. neomatoma* pero aún no existe alguna vinculación con la enfermedad, la *B. suis* es la que manifiesta cepas más diversas que otras especies de *Brucella*, en donde los biotipos 1,2 y 3 persisten en los cerdos. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 1)

La *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y sus biotipos 1-4 causan brucelosis en los individuo, pero a veces se da también por *B. canis* o *Brucella* de mamíferos marinos. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 1)

1.2.2 Taxonomía y especies

1.2.2.1 Taxonomía

Tabla 1-1 Clasificación taxonómica del género *Brucella*

Reino	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Clase	Alphaproteobacteria
Orden	Rhizobiales
Familia	<i>Brucellaceae</i>
Género	<i>Brucella</i>

Fuente: KRESSLER, 2014.

1.2.2.2 Especies

En la actualidad se dice que el género *Brucella*, por sus características antigénicas y su hospedador este se encuentra conformado por 10 especies (Tabla 2-1); siendo un tema aún en cuestión, por decirse que el género *Brucellae* posee una sola especie y que las demás únicamente son biovariedades, en el caso de *B. mellitensis*, *B. abortus* y *B. suis* por su estructura externa que cada una de estas poseen. (Álvarez et al., 2015: p.131)

Tabla 2-1 Especies de *Brucella*, hospedadores conocidos y biovariedades

Especie	Hospedadores conocidos	Biovariedades
<i>B. mellitensis</i>	Cabras, bovinos, ovinos, cánidos, hombre	1-3
<i>B. abortus</i>	Bovinos, cánidos, hombre	1-9
<i>B. suis</i>	Cerdos, cánidos, hombre	1-5
<i>B. canis</i>	Cánidos, hombre	
<i>B. ovis</i>	Ovinos	
<i>B. neotomae</i>	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: ALVAREZ et al., 2015.

Las especies más propensas a transmitir al ser humano son: *B. mellitensis*, *B. suis* y *B. canis*, sin embargo las de alto grado de frecuencia para propagar la enfermedad conocida como brucelosis humana son *B. mellitensis* con el 98% y *B. abortus* con un 2%. (Álvarez et al., 2015: p.131).

De las cuatro últimas especies nombradas la *B. inopinata* es la que apareció recientemente, debido a una infección que se efectuó en un implante mamario; a esta especie se la aisló en el año 2009. (Álvarez et al., 2015: p.131).

1.2.3 Características morfológicas

La bacteria *Brucella spp* es un cocobacilo Gram negativo, no capsulado ni formador de esporas (Martínez, 2013, p.1), mide aproximadamente 0.5-0.7x 0.6-1.5 micras, se le considera aerobio, inmóvil y de un crecimiento lento (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2013, p.1)

1.2.3.1 Estructura de *Brucella*

Membrana externa

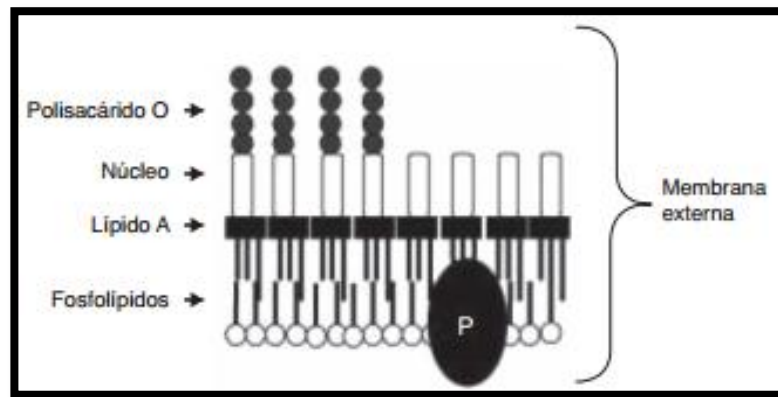


Figura 2-1 Membrana externa de la pared celular de *Brucella*

P: Proteínas

Fuente: (Álvarez, 2015)

Está compuesta por 3 partes o regiones que son: El lípido A, el núcleo (oligosacárido intermedio) y la cadena O o polisacárido, la membrana externa de *Brucella* es rica en fosfatidilcolina y la parte más estudiada es la endotoxina que también se la conoce como LPS. (Álvarez, 2015. pp. 131-132).

“El lípido A contiene glucosamina y diaminoglucosa, la longitud de la cadena varía porque en sus grupos amino e hidroxilos presenta sustituciones por ácidos grasos, el núcleo contiene glucosa, manosa y ácido 3 deoxi-D-mano-2 octolosónico, el polisacárido O es la parte más distal, en las especies rugosas puede estar ausente o muy disminuido en ella; es un

homopolímero lineal está compuesto por n-residuos de N-formil perosamina (4,6 dideoxi-4-formamido-Dmanopiranosilo)". (Álvarez, 2015. pp. 131-132).

Las proteínas de la membrana externa se asocian con los LPS, son importantes por su alta especificidad en comparación con otras especies de bacterias, son útiles para el diagnóstico serológico y también para la elaboración de vacunas. (Álvarez, 2015. pp. 131-132).

Estructura interna

Las proteínas citoplasmáticas de *Brucella* son exclusivas del género, algunas son de interés diagnóstico, como por ejemplo:

- La glucoproteína A2 termorresistente de 17 KDa, que interviene en la síntesis de riboflavina y que aparece en la fase activa de la infección. (Álvarez, 2015. pp. 131-132).
- La proteína periplásmica BP26 (Álvarez, 2015. pp. 131-132).

Estas proteínas forman parte del antígeno CP, que se emplea en pruebas de ELISA y como instrumento en las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada. (Álvarez, 2015. pp. 131-132).

1.2.4 Resistencia y Supervivencia

A diferencia de otros microorganismos patógenos la *Brucella* tiene una gran capacidad para sobrevivir y permanecer en el medio ambiente en condiciones adecuadas, semejante a la resistencia de bacterias esporuladas, en temperaturas apropiadas, humedad moderada, pH cercano a la neutralidad y protección contra el sol, no existe evidencia que esta bacteria se multiplique significativamente bajo estas condiciones apropiadas en el suelo, agua o estiércol, sin embargo las *Brucellas* pueden sobrevivir por largos periodos de tiempo. (Valenzuela, 2011, pp. 8-9; Pérez, 2011, pp. 5-6).

En condiciones ambientales apropiadas la *Brucella* puede sobrevivir en la hierba en periodos variables de tiempo, esta es sensible al calor, la luz solar e incluso a desinfectantes de usos común (Villamar, 2014, pp. 19-20); pero al encontrarse en congelación esta bacteria puede sobrevivir por muchos años, pero si se encuentra en radiación ionizante muere con rapidez al exponerla a la luz ultravioleta durante 5 minutos, frente a esto es muy sensible. Para desinfectar la piel

expuesta a esta bacteria son eficaces el etanol, formol, isopropanol, iodóforos y el fenol al 1%.
(Valenzuela, 2011, pp. 8-9).

Tabla 3-1 Supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente

Materiales	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 a 37°C Y pH 7,5	Menos de 1 día
Agua a 8°C y pH 6,5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6-8 meses
Descarga vaginal mantenida 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: VILLAMAR, 2014.

En estudios publicados se han realizado ensayos in vitro con diferentes métodos y se demuestra que la *Brucella* es susceptible a la mayoría de antibióticos a concentraciones mínimas inhibitorias bajas, así como las sulfonamidas, los aminoglicósidos como la estreptomina, gentamicina, kanamicina, amikacina, tobramicina; las tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, rifampicina y quinolonas como norfloxacin, ciprofloxacina y moifloxacina todos estos son activos contra *Brucella* in vitro, los menos efectivos son los beta lactámicos. (Pérez, 2011, pp. 5-6).

1.2.5 Serotipos

Tabla 4-1 Serotipos de *Brucella*

<i>Brucella</i>	Biovariedades	Animal portador
<i>Abortus</i>	8	Bovinos
<i>Suis</i>	5	Porcinos
<i>Melitensis</i>	3	Caprinos-Ovinos
<i>Canis</i>	1	Caninos
<i>Ovis</i>	1	Ovinos

<i>Neotomae</i>	1	Roedores
<i>Maris</i>	2	Mamíferos marinos

Fuente: (Programa Nacional de Educación Sanitaria)

1.3 Brucelosis

“La Brucelosis es una zoonosis de distribución mundial” (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 5), una enfermedad infectocontagiosa causada por la bacteria del género *Brucella* que afecta al ser humano, animales domésticos, mamíferos marinos e incluso a la fauna silvestre. (The Center For Food Security & Public Health, 2009, P.1; Guía para el equipo de salud, 2013, p. 5).

Esta enfermedad en casos crónicos genera incapacidad física al individuo portador de la bacteria ya que incluye gastos, por lo que se le considera una enfermedad de gran importancia para la salud pública, existiendo pérdidas de segundo grado por la afectación al ganado. (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 5)

1.3.1 Brucelosis animal

La brucelosis es una enfermedad subaguda o crónica que puede afectar a muchas especies de animales. En el ganado vacuno, ovejas, cabras, cerdos y otros rumiantes de la fase inicial después de la infección a menudo no es evidente. La gravedad de la enfermedad depende de muchos factores tales como la anterior la vacunación, la edad, el sexo y la gestión tales como el tamaño del rebaño o manada y densidad. (World Health Organization, 2006; p. 10).

1.3.1.1 Transmisión

La bacteria *Brucella* se transmite por medio de sangre, orina, secreciones vaginales, lesiones en la piel de los tejidos animales, saliva, secreciones nasales, secreciones oculares, fetos abortados y placenta; todo esto de rumiantes infectados (Lawinsky et al., 2010; Rovid et al., 2011).

Los animales eliminan *Brucellas* en un parto a término o cuando se ha presentado un aborto, sin embargo estos animales rumiantes después de su primer aborto generalmente no tienen ningún síntoma, convirtiéndose muy probablemente en portadores crónicos y continuar evacuando *Brucellas* en la leche y durante las preñeces posteriores en las descargas uterinas. (Rovid et al., 2011). Sin embargo los animales que se encuentran en corrales y establos pueden infectarse por medio del aire. (Lawinsky et al., 2010)

En el semen se encuentran la mayoría de especies de *Brucella* el macho en tiempos prolongados o durante toda su vida elimina esta bacteria, para las especies de *B. ovis*, *B. suis* y *B. canis* su principal vía de transmisión es la venérea aunque las especies de *B. abortus* y *B. mellitensis* también se encuentran en el semen pero no es común por transmisión venérea, sin embargo en los carneros se puede suscitar una transmisión directa no venérea de *B. ovis*. (Rovid et al., 2011).

1.3.1.2. Período de incubación

En los bovinos, cuando los rumiantes se contaminan durante la gestación en etapas tempranas el periodo de incubación es más prolongado, los abortos y mortinatos suceden entre 2 semanas a 5 meses después de haberse dado la infección es lo que ocurre en estas especies. En los cerdos y perros son más comunes entre 7 a 9 semanas de gestación, aunque habido muertes tempranas después de 2 a 3 semanas, ocurriendo abortos durante la gestación, sin embargo periodo de incubación en los animales varía según las especies y el estadio de gestación en el momento de la infección. (Sistema Potosino de Vigilancia Epidemiológica, 2011; p. 12)

1.3.1.3 Síntomas

Los posibles síntomas se presentan en machos y hembras, por lo general en las hembras se observan en la edad reproductiva, concluyendo que el síntoma principal es el aborto o el nacimiento de animales débiles o muertas. Sin embargo los propietarios de los animales deben permanecer alertas en el estado de salud de las crías porque existen casos que en las hembras infectadas no se pueda observar síntoma alguno más que a la vaca “pintadita”. (Díaz, 2010; p. 45-46).

En los machos se puede apreciar una inflamación testicular; los equinos pueden ser portadores de la enfermedad denominada cruz fistulosa que sus síntomas son inflamación del cuello o el lomo, llegando a abortar las yeguas o parir un potrillo débil y vulnerable (OIE).

1.3.1.4 Patologías

En las hembras:

- Bacteriemia
- Abortos
- Infertilidad
- Retención placentaria

- Nacimientos prematuros
- Metritis
- Mastitis (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 8)

En los machos:

- Infertilidad
- Epidimitis
- Orquitis
- Dermatitis escrotal
- Hepatomegalia
- Esplenomegalia (Guía para el equipo de salud, 2013, p. 8)

1.3.1.5 Tratamiento

Un tratamiento curativo para esta enfermedad en los animales no existe, (Agurto et al, 2013. p. 61), sin embargo los perros portadores de la infección con un tratamiento prolongado con antibióticos, en ciertos casos resultan ser exitosos, existiendo la posibilidad de que puedan sufrir una recaída después del respectivo tratamiento, en los caballos con cruz fistulosa en la bolsa infectada posiblemente debe ser eliminada quirúrgicamente. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 4).

1.3.1.6 Prevención

- Para prevenir la infección en los animales se realizan exámenes diagnósticos para tener conocimiento del estado de salud del animal.
- Hay que vacunar a crías (terneras) de entre 3 y 8 meses de edad, autorizados por el ICA en ciclos establecidos con las respectivas vacunas establecidas (Cepa 19 o Cepa RB 51).
- No se debe vacunar a hembras adultas con Cepa 19.
- No vacune a crías (machos) de ninguna especie.
- Si existe algún animal con la infección este debe ser eliminado para evitar el contagio con otras crías.

- Es recomendable ingresar al predio solo a crías que hayan sido examinadas y con resultados negativos a brucelosis.
- Reportar al ICA los casos de abortos o casos de sospecha de brucelosis.
- Debe existir un plan de bioseguridad en lo que consiste la limpieza, desinfección y control de plagas. (FEDEGAN , Federación Colombiana de Ganaderos, 2012. p. 8)

1.3.1.7 Morbilidad y mortalidad

Con un alto índice de morbilidad que no han sido expuestos al virus están las *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* y en forma crónica con un índice muy bajo en los infectados. Por el contrario con los bovinos, *B. abortus* rápidamente se propaga, como consecuencia de un 30-80% de abortos aun sin que estos animales hayan estado expuestos al virus, siendo un organismo endémico. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p.11)

La *B. melitensis* en ovejas y cabras es similar a lo antes descrito, sin dejar de lado a la *B. suis* que esta puede provocar abortos, mortinatos, debilidad de lechones, cojera/artritis, una vez que haya entrado en una piara, sin embargo aumenta la tasa de mortalidad previo al destete. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 11)

La *B. suis* provoca hasta un 80% de abortos en los cerdos, existe poca frecuencia, casos de muerte en animales adultos de la mayoría de especies. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 11)

La *B. ovis* provoca un 30-50% lesiones palpables en el epidídimo de carneros infectados, por lo que los índices de abortos varían, existe información donde se dice que este organismo provoca aborto e índices de mortalidad perinatal de 1-2% en corderos por otro lado en estudios experimentales limitados se dice que existen abortos hasta un 8%, sin embargo no se han reportado aumentos de aborto ni índices de mortalidad perinatal en ciervos rojos. (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 11)

La *B. canis* se expande en lugares confinados, especialmente durante la reproducción o en un aborto suscitado, siendo de poca frecuencia la muerte, exceptuando el feto y el neonato, en los criaderos se aprecia pérdidas reproductivas, en estos criaderos afectados se pueden destetar

hasta un 75% de crías. ”Se desconoce el índice e morbilidad y mortalidad en los mamíferos marinos.” (The Center For Food Security & Public Health, 2009. p. 11)

1.3.2 *Brucelosis humana*

El cirujano Capitán de la armada Británica, en la isla de Malta, David Bruce en 1887 este microbiólogo estableció la relación causal entre el organismo y la enfermedad a la que denominó cuadro de fiebre ondulante llamada así porque la fiebre podía durar meses e incluso llegaba a ser fatal; Bruce encontró este microorganismo en el bazo, hígado y riñones en las autopsias realizadas a los soldados fallecidos, a esta enfermedad la denomino Fiebre de Malta, (Ministerio de Salud Gobierno de Chile, 2015. p. 1), se conoce también como septicemia de Bruce, fiebre ondulante, fiebre del mediterráneo. (INIFAP-Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias 2011, p.37)

1.3.2.1 *Trasmisión*

En la transmisión humana existen otros medios, en granjas y mataderos incluyendo a personas en laboratorios con el riesgo de la auto inyección y la inoculación de *Brucella* cepa de la vacuna, accidentalmente; (Lawinsky et al., 2010), existe contaminación directa cuando los ordeñadores poseen sus manos infectadas con este tipo de microorganismos debido a que la ubre del bovino esta colonizada de bacterias (Rovid et al., 2011) , siendo poco común la contaminación en vehículos por heces y la orina de los rumiantes contagiados. (Lawinsky et al., 2010).

Existen casos que la infección se ha dado por trasmisión sexual, intrauterina, lactancia materna (Lawinsky et al., 2010), transfusión sanguínea, trasplante de médula ósea aunque estos dos últimos son de poca frecuencia, sin embargo si se le expone al bebé a la sangre, heces u orina de la madre durante el parto puede contraer una infección congénita. (Rovid et al., 2011).

Los casos más comunes de transmisión están en alimentos y agua, en productos lácteos no pasteurizados, en carnes crudas o cárnicos de poca cocción (Rovid et al., 2011), además en los mataderos existe contaminación cruzada en las fases posteriores a la transformación de los alimentos, en el hogar por la falta de higiene e inadecuada manipulación de los mismos y su cocción al momento de consumirlos. El agua de riego portador de *Brucella* también se considera un medio de contaminación para verduras y frutas que son de consumo directo. (Elika, 2013, p. 2).

1.3.2.2 Período de incubación

Por lo general en el ser humano el período de incubación es de 2 a 3 semanas aproximadamente siendo muy variable que puede darse hasta varios meses, también va a influenciar de tal manera la virulencia de la cepa de *Brucella* incluyendo la dosis y del estado tanto nutricional como inmune de la persona. (López, A.)

1.3.2.3 Síntomas

La enfermedad de Malta presenta síntomas no específicos como cefalea, pirexia, anorexia, lumbalgia, mialgia, adenopatía, esplenomegalia (Zabala et al, 2012, p.2) profusa sudoración, dolor de articulaciones y músculos, fatiga, debilidad (ANSES, 2014, p. 2) artralgia, meningitis, disminución de peso (Ministerio de Salud, 2012, p. 6); también existe formas asintomáticas siendo la más común; la forma aguda desaparece en unos pocos días, la forma subaguda tiene una duración de varios meses (ANSES, 2014, p. 2); algunos pacientes pueden desarrollar osteomielitis, artritis, abscesos esplénicos, orquitis y endocarditis (Zabala et al, 2012, p.2).

1.3.2.4 Patologías

- Artralgias
- Artritis
- Espondilitis
- Sacroileítis
- Orquiepidimitis
- Meningitis
- Endocarditis
- Hepatomegalia
- Bronconeumonía
- Neumonía Cavitada
- Nódulos pulmonares
- Linfadenopatía Hiliar
- Empiema
- Leucopenia (Ramos, 2012, pp. 268-269).

1.3.2.5 Complicaciones

Las complicaciones que trae la brucelosis localizada o subaguda son entre el 20-40% de los casos, presentando a menudo osteoarticular (principalmente la columna vertebral y la articulación sacroilíaca), puede ser también genital, meníngea, hepatosplénico, cardiaco, pulmonar, cutánea y oftálmica. . La endocarditis es rara (< 2 %), pero tiene una elevada tasa de letalidad (aproximadamente el 80 %). La brucelosis crónica (no sistemática): Sitios con evolución tórpida (Articular, visceral). (ANSES, 2014, p. 2)

Complicaciones musculoesqueléticas

Manifiesta enfermedades como artralgias, artritis, espondilitis, sacroileítis (más común), osteomielitis, tenosinovitis y bursitis. En la espondilitis las vértebras lumbares son las más afectadas, sin embargo la sacroileítis tiende a ser unilateral y es asimétrica cuando hay alteración bilateral, al momento que se extiende la infección puede existir abscesos paravertebrales, epidurales y problemas neurológicos, rodillas y tobillos son las partes más afectadas con artritis. (Ramos, 2012, p. 268).

Complicaciones genitourinarias

La orquiepidimitis es la más común, seguido de pielonefritis, cistitis y abscesos que necesitan un drenaje quirúrgico. La enfermedad en los animales se relaciona con tropismo del microorganismo por el tejido corioamniótico por los abortos suscitados sin embargo la enfermedad en los humanos se manifiesta con el mismo efecto en el embarazo. (Ramos, 2012, p. 268).

Complicaciones del sistema nervioso

La más frecuente es la meningitis, seguido de las menos frecuentes como son: encefalitis, mielitis, meningomielitis, polirradiculoneuritis, neuritis periférica e infarto cerebral. (Ramos, 2012, p. 269).

Complicaciones cardiovasculares

Una complicación grave es la endocarditis, con un 75% de los casos se identifica la lesión en la válvula aórtica. (Ramos, 2012, p. 269).

Complicaciones digestivas

Se manifiesta con hepatomegalia, ictericia con un 2.4 % daños hepáticos, es raro la presencia de abscesos hepáticos, por otro lado existen complicaciones raras como colecistitis, ileítis, colitis y pancreatitis. (Ramos, 2012, p. 269).

Complicaciones pulmonares

Los síntomas frecuentes son tos seca o con esputo escaso siendo el 1% de los pacientes que presentan complicaciones verdaderas como por ejemplo bronconeumonía, neumonía cavitada, nódulos pulmonares, linfadenopatía hiliar y empiema. (Ramos, 2012, p. 269).

Complicaciones hematológicas

La leucopenia con linfocitos es frecuente mientras que la leucocitosis y su presencia sin foco son raras. (Ramos, 2012, p. 269).

1.3.2.6 Tratamiento

Los antibióticos son el general la base del tratamiento (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 106). Para esta enfermedad causada por *Brucella spp*, se necesita un tratamiento prolongado y terapia antibiótica combinada, debido a que es un microorganismo de crecimiento lento, que causa lesiones granulomatosas crónicas; todos los antibióticos deben penetrar en los macrófagos y ser activos en medio ácido (González, 2006, p. 100)

La finalidad del tratamiento para brucelosis humana es mejorar los síntomas, reducir complicaciones y prevenir recidivas, sin embargo con un tratamiento adecuado la recuperación de la mayoría de los pacientes es completa, es de gran importancia que durante el primer mes del inicio de los síntomas el paciente reciba tratamiento apropiado, convirtiéndose en un reto el manejo de pacientes con brucelosis crónica. (Castaño, 2010, pp. 57-58)

Los antibióticos de elección para tratar la infección del microorganismo *Brucella spp* son: tetraciclinas, aminoglicósidos, rifampicina y quinolonas. (Castaño, 2010, pp. 57-58)

Para esta enfermedad las tetraciclinas siguen siendo los antibióticos de elección sin embargo la doxiciclina por su elevada actividad frente al microorganismo *Brucella spp*, baja toxicidad y bajo coste es el más empleado, el principal inconveniente es la aparición de recidivas. (Castaño, 2010, pp. 57-58)

Las tetraciclinas y estreptomina, su combinación reduce la frecuencia de recidivas y la incidencia de complicaciones, un antimicrobiano para el tratamiento de brucelosis en monoterapia por su baja toxicidad y fácil administración es la rifampicina, se recomienda la combinación con doxiciclina por la frecuente aparición de recidivas y de cepas que son resistentes a dicho compuesto. (Castaño, 2010, pp. 57-58)

Las combinaciones más usadas son las propuestas por la Organización Mundial de la Salud

Doxiciclina: 100 mg cada 12 horas por 45 días, mas estreptomina: 1 gr intramuscular cada 24 horas durante las dos primeras semanas. (González, 2006, p. 100)

Doxiciclina: 10 mg cada 12 horas, más rifampicina: 900 mg 24 horas durante 45 días. (González, 2006, pp. 100-101).

Siendo la más efectiva en la actualidad la primera dosificación (Castaño, 2010, pp. 57-58). Para la prevención de recaídas la estreptomina es más eficaz, su administración es parenteral sin embargo su atención es domiciliaria; por otro lado la rifampicina ayudaría el desarrollo de resistencia a la misma. (Pérez, A. 2014)

Se ha sustituido la estreptomina por gentamicina y netilmicina, triples terapias con trimetoprim-sulfametoxazol y asociaciones con quinolonas. (González, 2006, p. 101).

Para los niños menores de 8 años de edad que sufren de esta enfermedad el tratamiento se basa en la asociación de rifampicina, trimetoprim-sulfametoxazol y aminoglucósidos. (González, 2006, p. 101).

Rifampicina (15mg/kg/día) más trimetoprim-sulfametoxazol (8mg TM40 mg SX/kg/día), ambos en dos días por vía oral, durante 45 días. (González, 2006, p. 101)

Rifampicina o trimetoprim-sulfametoxazol durante 45 días, mas gentamicina 5g/kg/día durante los primeros siete días. (González, 2006, p. 101)

En embarazadas el tratamiento consiste en rifampicina de 600 mg/día, vía oral durante 6 semanas, si la paciente se encuentra entre la 13 a la 36 semanas de embarazo puede ir acompañado de trimetoprim- sulfametoxazol 160/800. (Pérez, A. 2014)

Sin embargo debe tenerse precauciones como por ejemplo la doxiciclina debe administrarse de preferencia junto con los alimentos, por otro lado la tetraciclina debe tomarse 2 horas antes de

los alimentos y evitar ingerirlos con leche y antiácidos. La rifampicina disminuye el efecto de anticonceptivos, anticoagulantes e hipoglucemiantes. (Pérez, A. 2014)

En embarazadas si se administra trimetoprim- sulfametoxazol debe asociarse con ácido fólico, si se utiliza en el tercer trimestre de embarazo, hay que considerar ictericia en el recién nacido y suspender la administración en la semana 36. (Pérez, A. 2014)

1.3.2.7 *Prevención*

Para prevenir la enfermedad de brucelosis en humanos primero, debe controlarse la infección en los animales, la medida de prevención más importante y segura es la pasteurización de todos los productos lácteos considerando que dicha enfermedad es endémica, teniendo en cuenta los productos de origen animal que no se deben consumir crudos o con poca cocción. (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 106).

En el trabajo una buena higiene y una vestimenta correcta con equipos de protección necesarios son de vital importancia para prevenir brucelosis, evitando la contaminación en la piel, o por accidente la inhalación o ingestión del microorganismo en un parto o al momento de carrear un animal, tomando las debidas precauciones especialmente al momento de manipular un feto abortado, membranas o líquidos. (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 106).

1.3.2.8 *Morbilidad y mortalidad*

La enfermedad se desarrolla en áreas endémicas existiendo más de 200 casos por cada 100.000 habitantes, en el país de EE.UU. la brucelosis humana es poco común existiendo aproximadamente 0,5 casos por cada 100.000 habitantes, en los últimos 10 años se ha detectado 100 por año, la mayoría de infecciones son asintomáticas, sin embargo existen ciertas infecciones sintomáticas pero con una recuperación lenta y con posibilidades de que se presente complicaciones. (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 106).

La incidencia y la gravedad de brucelosis humana dependen según las especies de *Brucella*, como por ejemplo tenemos al patógeno de mayor gravedad del género, que se le considera a *B. melitensis*, *B.abortus* y *B. suis* biovariedades 1,3 y 4 considerándose también patógenos importantes en humanos, los que son informados con poca frecuencia con *B.suis* biovariedades 2 y *B. canis* (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 107).

En estudios serológicos realizados se han encontrado “anticuerpos para *B. canis* en, un 13% de los pacientes en hospitales en México, 0,3% del suero obtenido en Alemania, 0,4% de las poblaciones militares de EE.UU. y 0,6% de los residentes de Florida.” (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 107).

En el año 2007 en el mes de julio aproximadamente se dio a conocer 4 casos de la enfermedad con *Brucella* de mamífero marino, la primera infección ocurrió con un investigador que se expuso en el laboratorio, la segunda y tercera infección fue en EE.UU. dos pacientes con neurobrucelosis adquirida, por consumo de pescado crudo (ceviche) y queso sin pasteurizar regularmente, el cuarto y último caso ocurrió en Nueva Zelanda con un pescador que consumía pescado crudo y por estar expuesto a mamíferos marinos con frecuencia. (The Center For Food Security & Public Health, 2010, p. 107).

Es rara la mortalidad por brucelosis, sin embargo se estima que los enfermos no tratados a tiempo pueden morir en un 2-5% de los casos, por lo general la muerte se da por endocarditis o meningitis. (Marj, 2016)

1.4 Programas de control y erradicación

Para un programa de control de este tipo de enfermedades consiste en:

- Vacunación
- La eliminación de los animales enfermos.
- Vigilancia epidemiológica.
- Control frecuente de la movilización de animales.

Las respectivas pruebas serológicas y las campañas de aprendizaje sanitarias son de gran relevancia en un programa de control. (AGROCALIDAD, 2009, p. 4)

Los animales portadores de esta enfermedad deben ir seguidos del sacrificio del animal para conseguir la erradicación de la patología tanto en animales como en humanos, la aniquilación de los animales enfermos comienza con la campaña nacional de erradicación. (AGROCALIDAD, 2009, p. 4)

Estrategia Nacional

El propósito del programa de control, fundamentalmente se basa en la realización de estrategias diferenciales, para cada sector epidemiológico señalado, a las terneras de edad de 3-6 meses se les aplica una vacuna Cepa 19 una sola vez. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)

Por otro lado la vigilancia epidemiológica está establecida en el diagnóstico de los predios y de los animales mediante la prueba de Ring-Test en leche y de aglutinación en suero sanguíneo por medio de Rosa de Bengala, sin embargo la prueba de Elisa Competitivo se aplica como una prueba confirmatoria, existen otras que están autorizadas por la OIE. El MAG-SESA plantea estrategias para prevenir, controlar y erradicar la enfermedad (Brucelosis) de los bovinos. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)

- A las becerras hembras, vacunar obligatoriamente entre los 4 y 8 meses con vacuna *Brucella abortus*. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)
- En los sectores de mediana y alta prevalencia, transcurrido los 15 meses se debe realizar una revacunación con la misma cepa a todas las hembras. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)
- De acuerdo al esquema y a la situación sanitaria planteada se debe realizar muestreos sanguíneos en animales adultos sin vacunar en las fechas preestablecidas. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)
- Los animales que sean portadores de la enfermedad se los identifica con una marca de fuego con la letra “B” en el cachete izquierdo del animal, hasta llegar al camal donde serán eliminados. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)
- Cuando la hembra haya abortado se le debe informar al veterinario responsable del caso para tomar las medidas pertinentes, mientras tanto hay que aislar al animal en cuestión para que después de 10 días del aborto suscitado se le realicen nuevas tomas de muestra con el objetivo de llegar a un diagnóstico definitivo. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)

En caso que el diagnóstico sea positivo a la enfermedad de Brucelosis, los animales deben permanecer aisladas hasta su sacrificio, sin embargo los fetos que hayan sido abortados deberán llegar hasta el laboratorio para el respectivo diagnóstico. (Agurto, D. et al, 2013, pp. 65-68)

1.5 Formas de Detección

Métodos directos

Se basa en comprobar la presencia del microorganismo o de sus componentes en los tejidos de los animales o del hombre. (Castro, 2005)

Mediante este método facilita la identificación del agente etiológico en la muestra a analizar del animal enfermo o infectado, las partes a analizar son únicamente de muestras líquidas del cuarto estómago del feto abortado, placenta, pulmón, bazo, leche, sangre y otros líquidos, estas muestras se deben conservar a refrigeración y enviarse lo más pronto posible al laboratorio para su respectivo análisis. (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA).

Existen factores para el éxito de aislamiento como son la frescura de la muestra, el método de transporte, la asepsia en el momento de tomarla, la temperatura a la que se encuentra la muestra y por último la manipulación correcta al momento del análisis. (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA)

Métodos indirectos

Este método es el más utilizado por las dificultades que existen en la implementación de aislamiento de *Brucella*, a partir de los diferentes tejidos. Hay pruebas que detectan no solo el mayor número de personas infectadas sino también para diferenciar entre infectados y vacunados, de la misma manera para la identificación de reacciones cruzadas. (Castro, 2005)

En el diagnóstico las pruebas serológicas a utilizar son:

a) Aglutinación lenta en tubo de Wright (SAT)

Es una de las pruebas más antiguas para la detección de brucelosis animal y humana. Del suero a investigar se realizan diluciones crecientes de la muestra a analizar (suero), observándose la presencia o no de aglutinación después de un periodo de incubación. (Castro, 2005)

b) Prueba de aglutinación con y sin 2-mercapto-etanol (2-ME)

Es simplemente una variante de la anterior con el tratamiento previo con 2-ME como agente reductor que inactiva los anticuerpos de clase IgM. Las pruebas de aglutinación en tubo con y sin tratamiento del suero con 2-ME se realizan simultáneamente. (Castro, 2005)

c) Reacción de Huddleson

Este método es una reacción de aglutinación rápida en placa. Se enfrentan cantidades decrecientes de la muestra a analizar y se observa la presencia o no de aglutinación. (Castro, 2005)

d) Prueba de Rosa de Bengala

Se utiliza como tamiz; es una prueba rápida en placa. Para el análisis se coloca una alícuota de 30 μL de suero y 30 μL de antígeno, se observa la presencia o no de aglutinaciones. (Castro, 2005)

e) Antígeno Tamponado en Placa (BPA)

Es una más de las pruebas tamices que se realizan en placa, en donde se colocan 80 μL de muestra (suero) con 30 μL de antígeno, se observa la presencia o no de aglutinaciones. (Castro, 2005)

f) Prueba de Coombs

Esta prueba permite detectar anticuerpos completos e incompletos, que consiste la aglutinación en tubo. Para el análisis se realizan diluciones seriadas de la muestra (suero), que se incuban con una suspensión antigénica de *B. abortus* para que se dé la aglutinación mediada por los anticuerpos completos. Las respectivas suspensiones de las diluciones mayores se lavan adecuadamente de esta forma la aglutinación mediada por los anticuerpos incompletos. (Castro, 2005)

g) Fijación de complemento

Es una de las pruebas de referencia internacional altamente específica. Se incuban diluciones de la muestra (suero) inactivo con el antígeno y el complemento en la primera etapa de la reacción; en la segunda etapa de la reacción se compara la hemólisis con los estándares respectivos 0, 25, 50, 75 y 100% de lisis, en esta etapa se agrega el sistema hemolítico. (Castro, 2005)

h) Inmunofluorescencia indirecta

Es una prueba de interacción primaria. En esta prueba se realizan incubaciones de las diluciones crecientes de la muestra (suero) para el análisis sobre una impronta de *Brucella*, después se le coloca el anticuerpo anti-especie marcado con una sustancia fluorescente y se observa en un microscopio de fluorescencia. (Castro, 2005)

i) ELISA

Es una de las técnicas altamente sensible, específica y versátil, para esta prueba se requiere una pequeña cantidad de suero dando buenos resultados aun en presencia de hemólisis. (Castro, 2005)

▪ ELISA indirecto (ELISA-I)

El antígeno se fija a placas de poliestireno luego se incuba con la muestra a analizar, después con un anti-especie conjugado con una enzima se le añade un sustrato y se mide el color desarrollado a la longitud de onda determinada, se pueden usar conjugados que reconozcan las distintas clases de inmunoglobulinas. (Castro, 2005)

▪ ELISA competitivo (ELISA-C)

“Se utiliza un anticuerpo monoclonal que reconoce el epitope O del LPS-S, que compite con los anticuerpos del suero por la unión al antígeno fijado en la placa, el revelado se efectúa con un anticuerpo anti-ratón conjugado con una enzima.” (Castro, 2005)

j) Polarización de fluorescencia (FPA)

Esta prueba se realiza en muestras de sangre entera y de leche. “los anticuerpos al unirse al antígeno cambian la velocidad de rotación de la molécula, si se hace incidir un haz de luz fluorescente polarizada, el ángulo de difracción cambia en función del anticuerpo unido, este cambio es medido por un detector que lo traduce en una señal.” (Castro, 2005)

k) Prueba de inmunodifusión en agar (IDAG)

“Es una técnica de doble difusión en geles, se efectúa la reacción de doble difusión del suero a investigar frente a un suero control observando las reacciones de identidad.” (Castro, 2005).

Existen métodos de detección sugeridos por la OIE (Organización Mundial de la Salud Animal) para el diagnóstico de brucelosis en las distintas especies como son:

- En bovinos: BPA, Rosa de Bengala, Fijación de complemento, ELISA-I, ELISA –C, FPA.
- En caprinos: Rosa de Bengala, fijación de complemento.
- En ovinos: Fijación de complemento, ELISA-I, IDAG.

- En porcinos: BPA, fijación de complemento ELISA-C, ELISA-I, FPA.
- En caninos: Huddleson, aglutinación con y sin 2-ME, aglutinación lenta en tubo, ELISA-I, IDAG.

Habitualmente para el estudio de brucelosis humana se utilizan pruebas tamices como BPA, Rosa de Bengala o Huddleson, y para las pruebas confirmatorias aglutinación lenta en tubo con y sin 2-ME, Coombs y fijación de complemento. (Castro, 2005)

1.6 Método Delphi

RAND Corporation (institución militar estadounidense) elaboro el método conocido como DELPHI o DELFOS que está en relación con “buscar” o “indagar” el objetivo es obtener de manera sistemática un consenso del grupo de expertos pero que el coordinador será el responsable de centralizar el trabajo. (Ringer, R., p.2).

Es un método para la estructuración de un proceso por medio de expertos (grupo de individuos) para tratar un problema de alta complejidad, mediante esta técnica se logra conseguir un acuerdo mutuo con los especialistas sobre el problema planteado. (Varela M , 2012; pp. 91-92)

Cuando no existe información suficiente es adecuado utilizar como recurso el juicio subjetivo de profesionales expertos, pero al limitarse al conocimiento y únicamente la experiencia de una persona puede resultar una estimación imprecisa por lo que el juicio subjetivo grupal es mejor que la de una persona por la mayor información que dispone un grupo. (Varela M , 2012; pp. 91-92)

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

Para el estudio: Detección de anticuerpos contra *Brucella spp* en muestras de sangre de los estudiantes de la Escuela de, ESPOCH primero se solicitó a la Directora de la Escuela 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 de la Directora de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, 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

En la presente investigación la población de estudio represento los 603 los estudiantes matriculados en la Escuela de Bioquímica y Farmacia, ESPOCH.

Unidad de análisis

En el presente trabajo de investigación la unidad de análisis fueron los sueros sanguíneos de los estudiantes

Tamaño de muestra

Para conocer el tamaño de muestra del estudio, se utilizó la tabla Militar Estándar 105 D, incluyendo a estudiantes que accedieron como voluntarios al trabajo de investigación, formando un total de 140 estudiantes.

.

Tipo y Diseño de Investigación:

El tipo de investigación fue con un enfoque semicuantitativo debido a que los datos alcanzados fueron observables y se realizaron comparaciones con otros estudios previos, su alcance fue explicativo porque analiza la presunta relación entre un factor y su efecto; fue un trabajo prospectivo porque se obtuvieron resultados a medida que se va desarrollando el estudio; de tipo transversal debido a 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 la investigación

El trabajo de investigación se realizó en sueros sanguíneos de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

Las muestras de sangre fueron tomadas y su posterior análisis se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica Clínica y Bacteriología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Materiales y equipos*

- Hoja de solicitud de consentimiento informado (ANEXO B)
- Mediante esta solicitud se respetan los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki (Galende, 2009, pp.35-41) todos los pacientes voluntarios que acuden a la toma de muestras permiten ser involucrados en el estudio respectivo al firmar la solicitud de consentimiento informado, luego de darles a conocer el objetivo de esta investigación.
- Encuesta sobre datos epidemiológicos (ANEXO C) la misma que estuvo formada con un total de 12 preguntas entre abiertas y cerradas, mediante el cual se obtuvo información sobre su relación con la patología de los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.
- Reporte de resultados (ANEXO D)
- Tubos de tapa roja sin anticoagulante para vacutainer

- Agujas para vacutainer
- Cápsula para vacutainer
- Torniquete
- Torundas
- Cure band
- Guantes
- Lápiz marcador
- Micro pipetas
- Eppendor
- Placa de vidrio
- Centrífuga
- Refrigerador
- Cámara de flujo laminar
- Estufa
- Unidad de lectura para aglutinación

2.2.2 Reactivos

- Sueros Sanguíneos
- Rosa de Bengala Antígeno Brucelar Amortiguado MICSA S.A.

- 2- Mercaptoetanol (Mercaptin)
- Antígeno para *Brucella* (Mercaptin)
- Alcohol antiséptico 70 G.L.

2.3 Técnicas y Métodos

2.3.1 Técnica de toma de muestras de sangre

1. Se codificó los tubos de tapa roja sin anticoagulante para vacutainer.
2. Se identificó las venas del brazo para la extracción de la sangre
3. Se procedió a la extracción de sangre mediante venopunción de antebrazo
4. Se obtuvo la sangre de la vena cubital mediana, cefálica y basílica en un ángulo de 45° con el bisel de la aguja hacia arriba
5. Finalmente se consiguió aproximadamente 10 mL de sangre

2.3.2 Procesamiento de muestras

1. Se centrifugó las muestras a 3000 rpm durante 5 minutos.
2. Se separó los sueros en los eppendor
3. Se colocó a congelación para preservarlos para su posterior análisis

2.3.3. Análisis de muestras

2.3.2.1 Prueba rápida en placa con antígeno Rosa de Bengala

1. Las muestras de suero sanguíneo se las llevó a temperatura ambiente al igual que el reactivo correspondiente para iniciar el análisis.
2. Se usó placas de vidrio cuadrículada, desinfectada respectivamente.
3. Se realizó el control positivo y negativo del antígeno.
4. Se colocó 40 µL de suero y 40 µL de antígeno.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados de la encuesta epidemiológica

Para llevar a cabo la investigación en los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de los distintos niveles, la población fue de 603 universitarios; el tamaño de la muestra en sí fue de 80 estudiantes según la tabla Militar Standard, sin embargo existió un total de 140 estudiantes que se realizaron el análisis, tomando el 95% de confiabilidad y el 5% de error para la encuesta, por ello los resultados se muestran sobre ese número total de encuestas.

Se efectuó una encuesta (ANEXO A) para obtener datos epidemiológicos acerca de la relación que tienen los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia con la patología, que fue realizada antes de la toma de muestra de sangre, en el laboratorio de Bioquímica Clínica y Bacteriología de la Facultad de Ciencias, tomando en cuenta que el 75% de las encuestas corresponden al género femenino y un 25% al género masculino. (Tabla 1-3) (Gráfica 1-3).

Tabla 1-3 Género de los pacientes

Género	Frecuencia	Porcentaje
Masculino	35	25,0
Femenino	105	75,0
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

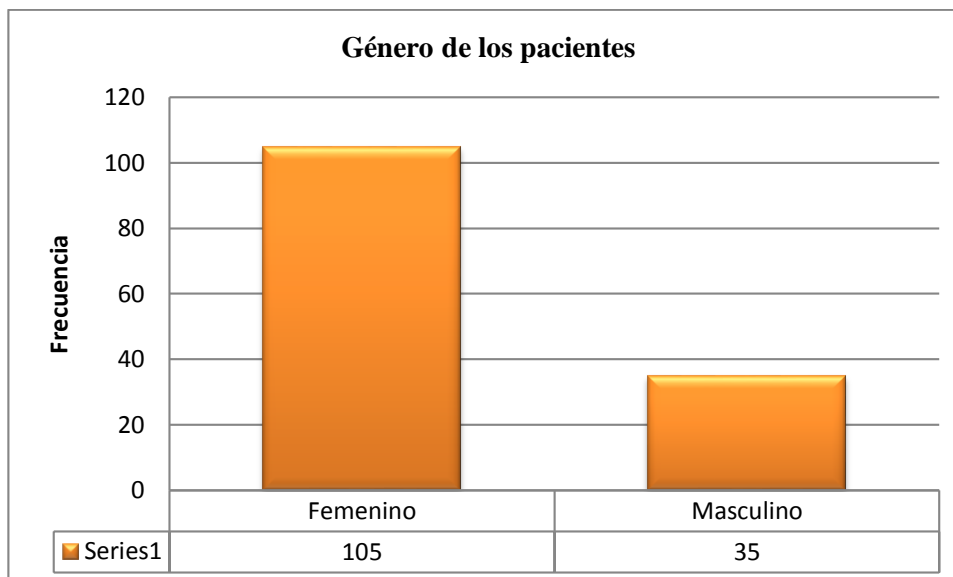


Gráfico 1-3: Género de los pacientes
Realizado por: Gina Oñate, 2016

Tabla 2-3 Edad de los estudiantes

Rango de edades	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<= 20	68	48,6	48,6	48,6
21 - 22	39	27,9	27,9	76,4
23 - 24	24	17,1	17,1	93,6
25 - 26	8	5,7	5,7	99,3
27	1	,7	,7	100,0
Total	140	100,0	100,0	

Realizado por: Gina Oñate, 2016

Mediante la gráfica 1-3 se pudo observar que el género femenino predominó con un 75% y con un 25% masculino esto indica que en la escuela existe un alto índice de mujeres, siendo considerable debido a las características de la carrera en sí.

Sin embargo en estudios realizados afirman que el género masculino es quien tiene mayor posibilidad de contraer brucelosis aunque en otro estudio relacionado con brucelosis encontraron que el género femenino presentó mayor positividad, por lo que se considera que este factor no depende del género sino de la actividad que el individuo realice. (Lugo, a. et al.2010, pp. 2-4)

La tabla 2-3 presenta la edad de los estudiantes evaluados observandose que el mayor porcentaje esta por debajo de los 26 años esto se explica que la poblacion estudiada corresponde a estudiantes universitarios, se observa que existe un alto índice de estudiantes entre la edad de

<= 20 años que representa el 48,6%; con el 27,9% los de 21-22 años, el 17,1% los de 23-24 años; el 5,7% los de 25-26 años y con el 0,7% que representa a un estudiante de 27 años de edad.

Tabla 3-3 Procedencia de los estudiantes

Provincias	Frecuencia	Porcentaje
Chimborazo	64	45,7
Tungurahua	38	27,1
Santo Domingo de los Tsáchilas	13	9,3
Pichincha	8	5,7
Cotopaxi	6	4,3
Morona Santiago	3	2,8
Los Ríos	2	1,4
Carchi	1	,7
Napo	2	1,4
Bolívar	1	,7
No responde	1	,7
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

Según la procedencia de los estudiantes (Tabla 3-3) la mayoría es de la provincia de Chimborazo y Tungurahua debido a la cercanía en que estas se encuentran representando un mayor porcentaje entre ellas.

Tabla 4-3 Consumo de productos lácteos sin pasteurizar

Consumo de lácteos sin pasteurizar	Frecuencia	Porcentaje
Si	75	53,6
No	64	45,7
No responde	1	,7
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

En la (Tabla 4-3) se observa un mayor índice de consumo de productos lácteos sin pasteurizar en los estudiantes, esto indica que los universitarios optan por la facilidad de consumo de lácteos que no han sido sometidos a ningún tipo de pasteurización, posiblemente sea una de las principales causas por la cuales se adquiere *Brucella*. (Lugo, a. et al.2010, pp. 2-4).

Tabla 5-3 Frecuencia del consumo de leche cruda

Frecuencia de consumo	Frecuencia	Porcentaje
No responde	29	20,7
Diaria	9	6,4
Semanal	30	21,4
Mensual	12	8,6
Esporádica	60	42,9
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

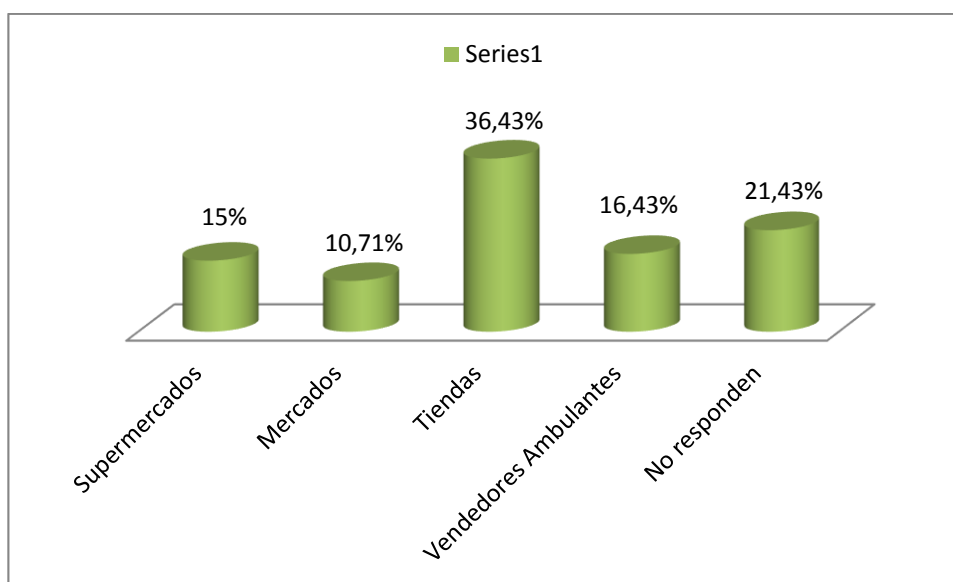


Gráfico 2-3 Lugar de adquisición de la leche que consume

Realizado por: Gina Oñate, 2016

En cuanto a la leche cruda, se observó que un 42,9% de la población estudiada la consume esporádicamente y un 21% la consume semanalmente.

Sin embargo, el consumo está muy arraigado en las personas que trabajan en el campo como también los granjeros porque según ellos lo consideran como un alimento fresco y sano. (García, Z. 2007, p.56); según la norma NTE INEN 0009 la leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando: es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas. (NTE INEN, 2012, p. 1)

Es posible afirmar que la leche cruda, crema y mantequilla preparadas a partir de leches no fermentadas ni tratadas térmicamente, constituyen productos muy peligrosos desde el punto de vista de la transmisión de Brucelosis. (Rodríguez, A. 2005, p.1)

El (Gráfico 2-3) los estudiantes universitarios según la encuesta realizada, ellos obtienen la leche que consumen en tiendas, por la factibilidad de cercanía a sus domicilios, en otros casos algunos adquieren la leche de vendedores ambulantes, y fueron pocos los individuos que se acercan a supermercados y mercados para la obtención del producto.

Tabla 6-3 Consumo de queso fresco

Frecuencia de consumo	Frecuencia	Porcentaje
No responde	11	7,9
Diaria	12	8,6
Semanal	64	45,7
Mensual	28	20,0
Esporádica	25	17,9
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

En la investigación efectuada a los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia respecto al consumo de queso fresco existe un alto porcentaje de universitarios que lo hacen semanalmente representando el 45,7%, seguidamente hay un 20% de individuos que lo consumen mensualmente, el 17,9% es esporádica, y los que consume a diario son el 8,6% mientras que un 7,9 % no responden la pregunta.

Según la norma NTE INEN la leche utilizada para la fabricación del queso fresco, debe cumplir con los requisitos de la norma NTE INEN 10, (NTE INEN. 2012, p.3). Ya que existe un riesgo potencial de productos lácteos, como el queso hecho en casa con leche cruda. (Jaramillo, V. et al, 2013. p. 19); el queso fresco no curado, de procedencia casera y no sometida a control sanitario, los cuales podrían ser el vehículo, dando lugar a brotes epidémicos. (Pozo, M, 2011. p. 11).

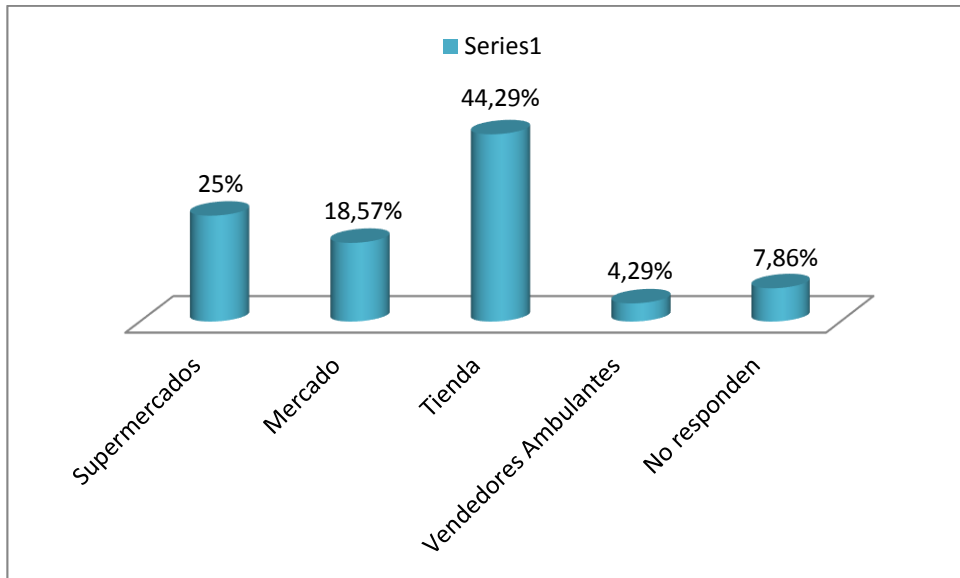


Gráfico 3-3: Lugar de adquisición de queso fresco
 Realizado por: Gina Oñate, 2016

Según el Gráfico (3-3) el queso fresco es adquirido mayormente por los universitarios en tiendas (44,29%), una posible explicación es que, por lo general estos establecimientos se encuentran cerca del lugar donde habita el estudiante.

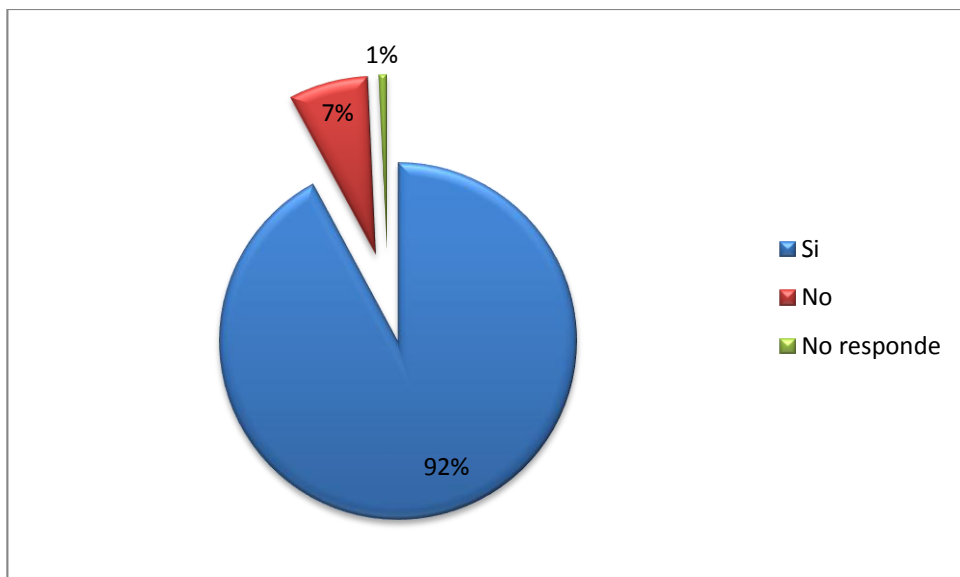


Gráfico 4-3: Individuos que consumen carne de res
 Realizado por: Gina Oñate, 2016

Tabla 7-3 Consumo de carne de res

Frecuencia de consumo	Frecuencia	Porcentaje
No responde	6	4,3
Diaria	19	13,6
Semanal	78	55,7
Mensual	22	15,7
Esporádica	15	10,7
Total	140	100,0

Realizado por: Gina Oñate, 2016

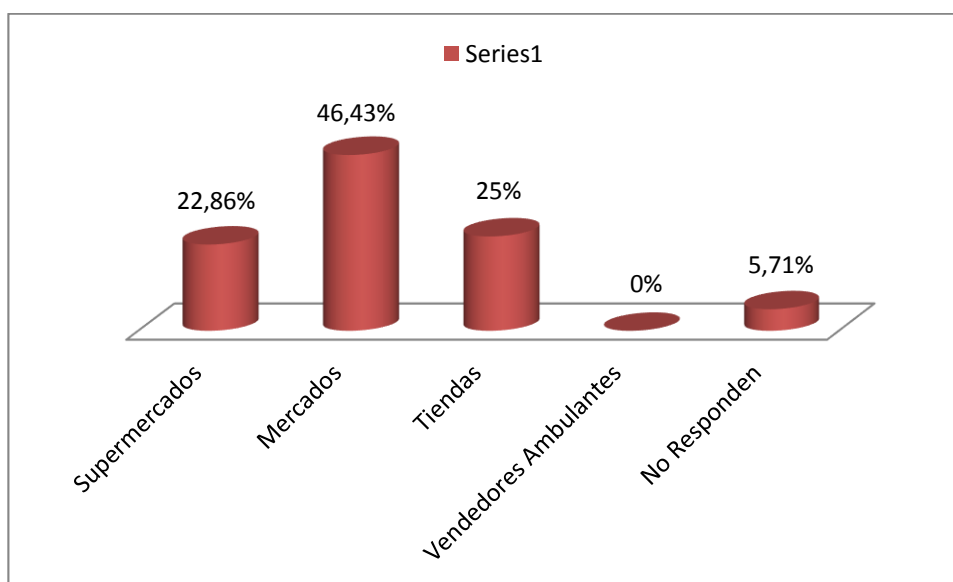


Gráfico 5-3: Lugar de adquisición de la carne de res

Realizado por: Gina Oñate, 2016

En el (Gráfico 4-3) los individuos consumen carne de res en un porcentaje del 92% de estudiantes, tan solo el 7% no lo hacen.

Sin embargo nuestro país tiene una cantidad suficiente para satisfacer el consumo de sus habitantes siendo líder la provincia de Manabí el top de la producción junto con 7 provincias que más consumen carne como son: Loja, Pichincha, Azuay, Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi y Carchi. (Pérez. 215. pp. 1-4).

Es por esto que el consumo es muy frecuente en los habitantes de la región Sierra en especial los de la provincia de Chimborazo.

La tabla 7-3 muestra el consumo de carne de res entre los estudiantes evaluados, observándose que la mayoría la consume una vez a la semana (55,7%), la mayoría de los estudiantes compran la carne de res en los mercados, ninguno la obtuvo de vendedores ambulantes (Gráfico 5-3).

(Rivers A, Boskey E, 2012.) Exponen que el consumo de carne cruda se considera un factor de riesgo para la adquirir brucelosis.

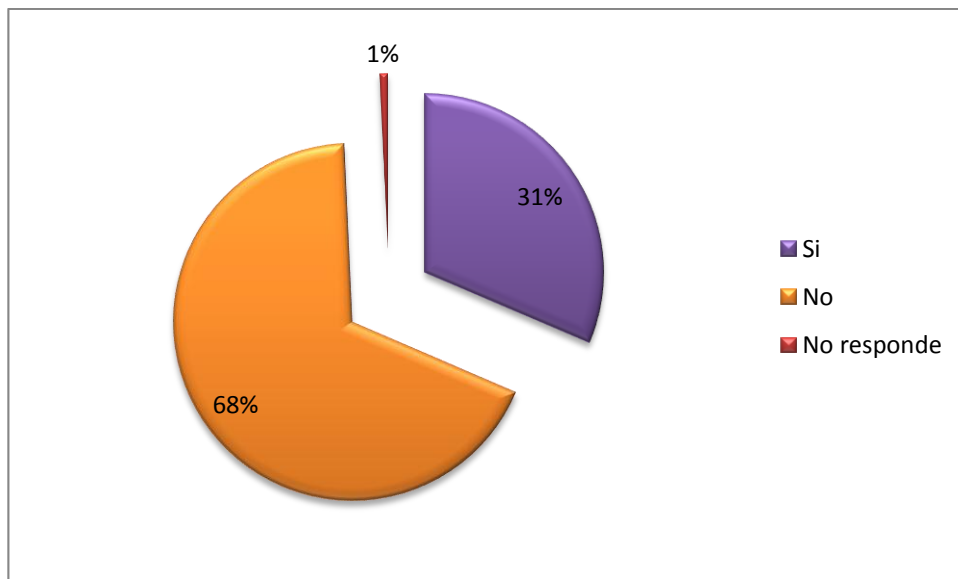


Gráfico 6-3: Individuos que tienen ganado vacuno
Realizado por: Gina Oñate, 2016

En el (Gráfico 6-3) respecto al porcentaje de individuos que tiene ganado vacuno, el 68% afirman que no lo tienen, mientras que el 31% si, esto nos indica que existen universitarios con poca posibilidad de contagio con la infección observando que la mayoría no tiene este factor de transmisión para con la bacteria *Brucella spp.*

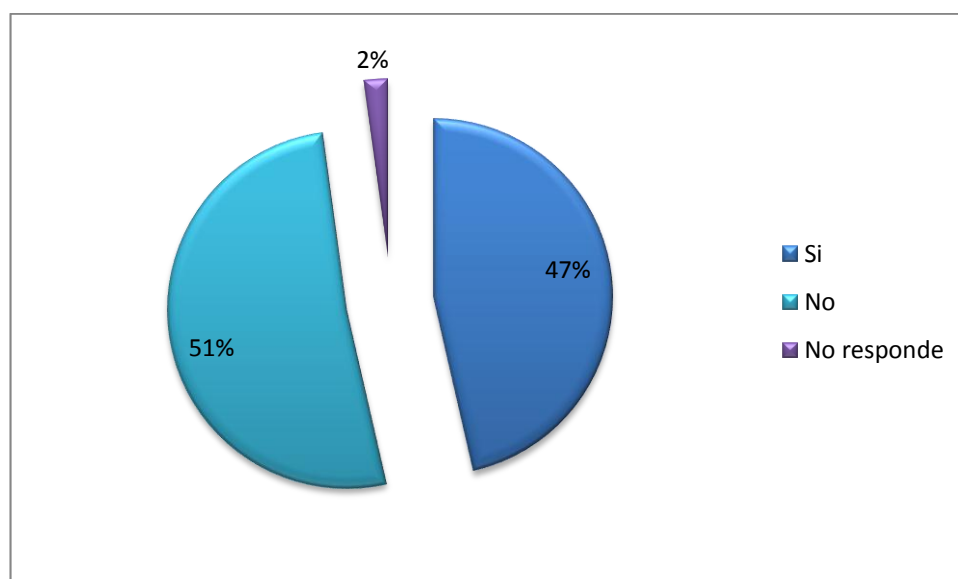


Gráfico 7-3: Contacto directo con el ganado vacuno
Realizado por: Gina Oñate, 2016

En el (gráfico 6-3) del 51% de los estudiantes no ha tenido ningún contacto con los animales, mientras que el 47% lo han tenido, esto indica que no todos los estudiantes provienen de lugares endémicos, es decir de comunidades o zonas rurales donde esté más prevalente dicha zoonosis.

Del estudio de investigación efectuada en la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia sobre el estudio de detección de anticuerpos contra *Brucella spp*, los resultados obtenidos fueron los siguientes.

3.2 Resultados de las pruebas serológicas

Tabla 8-3 Resultados de la prueba serológica Rosa de Bengala realizada en los estudiantes

Número de pacientes	R.B
140	Negativo

Realizado por: Gina Oñate, 2016
RB (Rosa de Bengala)

Se obtuvieron en total 140 muestras de suero sanguíneo de estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia a quienes se les realizó la prueba serológica Rosa de Bengala (RB) para la detección de anticuerpos contra *Brucella* en animales y humanos.

En la tabla 8-3 se presentan los resultados de la prueba serológica Rosa de Bengala realizada en los estudiantes, observándose que el 100% resultaron negativos. Se realizó una prueba adicional confirmatoria con 2-mercaptoetanol esta se aplicó solo a los sueros de los estudiantes que tenían factores de riesgo, observándose que ninguno de ellos presenta la infección.

Tabla 9-3 Resultados de las pruebas serológicas RB y 2ME realizada en los estudiantes

	Número de pacientes	Resultado
	16	
Pruebas serológicas	RB	Negativo
	2ME	

Realizado por: Gina Oñate, 2016
RB (Rosa de Bengala), 2ME (2Mercapto-Etanol)

Estudios realizados previamente según (Lugo A. et al; 2010) en estudiantes universitarios mostraron un 1,47% de casos positivos, explicando que los estudiantes universitarios procedían de zonas endémicas para la Brucelosis.

En Ecuador, en Santo Domingo se llevó a cabo un estudio en suero sanguíneo de individuos encontrándose brucelosis en 1,43%, es importante señalar que una de las pruebas utilizadas fue Rosa de bengala y la prueba de aglutinación Lenta en Tubo en presencia de EDTA (SAT-EDTA), la población estudiada fue al personal que está involucrado directamente en el manejo del animal debido a que la investigación se llevó a cabo en una hacienda. (Cuenca D, 2013)

A diferencia del trabajo de investigación de (Zambrano M, Pérez M, 2015) realizado en mataderos de la región norte y centro de la provincia de Manabí, Ecuador se analizaron sueros sanguíneos del personal que labora en el establecimiento, utilizando la usual prueba Rosa de Bengala y como prueba confirmatoria aplicaron ELISA competitivo y existió un 1,10% de casos positivos.

La población estudiada a diferencia de los trabajos mencionados los universitarios no se encuentran en un contacto frecuente y directo con el ganado, con la posible razón de que los estudiantes provienen de zonas urbanas, según (López P, Martínez P.) manifiestan que el contagio de Brucelosis a los humanos se da con mayor frecuencia a grupos laborales, en particular al personal que esta habitualmente con los animales por que el animal es un predominante de transmisión.

Según el MSP (Ministerio De Salud Pública), en el año 2015, en la ciudad de Latacunga provincia de Cotopaxi se informó un caso de Brucelosis de un individuo posiblemente del medio rural (MSP; 2016)

Según Agro-calidad en el año 2009 se realizó el Programa Nacional y Regional de control de Brucelosis Bovina cumpliendo con el objetivo de controlar la *Brucella* en animales y quizás por esta razón los estudiantes no están infectados con el agente patógeno. Por ende los universitarios han consumido productos lácteos que están libres de la bacteria.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo datos epidemiológicos de los estudiantes según la relación que estos tuvieran con la patología mediante la encuesta previamente elaborada y validada por el método Delphi para así garantizar la estructura de la misma y obtener datos verídicos los mismos que son de alta confiabilidad debido a que con anterioridad se les explicó a los universitarios de una manera adecuada de cuáles eran los fines de la investigación, obteniendo así un 53,6% de individuos que consumen productos lácteos sin pasteurizar, un 42,9% que consumen leche cruda de manera esporádica, un 45,7% consumen queso semanalmente, al igual que la carne de res con un 55,7%.
- Mediante la prueba Rosa de Bengala se realizó el análisis en los sueros sanguíneos de los estudiantes, y no se evidenció anticuerpos contra *Brucella spp* sin embargo, para tener unos resultados de alta veracidad el análisis se lo realizó por duplicado a los estudiantes que cumplían ciertos factores de riesgo llegando a la conclusión de que no existía anticuerpo alguno.
- Los resultados obtenidos fueron en su totalidad negativos los mismos que no tuvieron la necesidad de realizar una prueba confirmatoria con 2-mercaptoetanol, pero debido a que existieron casos según en las encuestas realizadas habían estudiantes que cumplían ciertos parámetros de riesgo para *Brucella spp*, aquellos sueros sanguíneos fueron los únicos que se les realizó la prueba confirmatoria para descartar cualquier posibilidad de portar la enfermedad.
- Una vez revisada bibliografía se logró capacitar a los estudiantes voluntarios sobre los síntomas, complicaciones, patologías, las consecuencias en sí que acarrea la Brucelosis Humana si no existe un control adecuado e incluso un análisis temprano la enfermedad lleva a situaciones muy complejas para la vida de un ser humano.

RECOMENDACIONES

- Realizar el mismo estudio en una zona ganadera de Chimborazo en donde exista el consumo de productos lácteos sin pasteurizar para de esta manera obtener datos más específicos de la zona.
- Informar a los estudiantes sobre las enfermedades zoonóticas más prevalentes que existen a nivel mundial.
- Concientizar no solo a los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia sino a la comunidad Politécnica de qué manera en ciertos alimentos puede estar presente la bacteria *Brucella spp.*
- Incentivar a los estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia siendo que formamos parte del área de salud, promover campañas de prevención contra Brucelosis humana.

BIBLIOGRAFÍA

AGURTO, Diego δ FERNÁNDES Pedro “*Prevalencia de Brucelosis Bovina en la Parroquia Ingapirca, Cantón Cañar, Provincia de Cañar*” [En línea] (tesis) (Pregrado) Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cañar. 2013. p. 61. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/415/1/tesis.pdf>

AGROCALIDAD (Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro) *Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina* [Consulta: 2016-08-29]. Disponible en: http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf

ÁLVAREZ, N. *Brucelosis, una zoonosis frecuente, “Medicina e investigación”* [En línea], 2015, (México) (3) pp. 131-132 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/49566/9.-%20Brucelosis%2c%20una%20zoonosis%20frecuente.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ÁLVAREZ, N. “*Brucelosis, una zoonosis frecuente*”. *Revista de Medicina e investigación* [en línea], 2015, (México) 3(2), p. 131. [Consulta: 15 de 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>

AYALA BECERRA, Ernesto Armando. *Incidencia de Brucelosis bovina (Brucella abortus) en los hatos lecheros de la Asociación Rancheros del Norte, Parroquia El Carmelo Cantón Tulcán, Provincia del Carchi* [En línea] (Tesis) (Pregrado). Universidad Politécnica Estatal Del Carchi, Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales, Desarrollo Integral Agropecuario, Ecuador. 2013. [Consulta: 2016-08-19]. Disponible en: [http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/35/1/171%20INCIDENCIA%20DE%20BRUCELOSIS%20BOVINA%20\(BRUCELLA%20ABORTUS\)%20EN%20LOS%20HATOS%20LECHEROS%20DE%20LA%20ASOCIACION%20RANCHEROS%20DEL%20NORTE,%20PARROQUIA%20EL%20CARMENO%20-%20AYALA%20BECERRA,%20ERNESTO.pdf](http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/35/1/171%20INCIDENCIA%20DE%20BRUCELOSIS%20BOVINA%20(BRUCELLA%20ABORTUS)%20EN%20LOS%20HATOS%20LECHEROS%20DE%20LA%20ASOCIACION%20RANCHEROS%20DEL%20NORTE,%20PARROQUIA%20EL%20CARMENO%20-%20AYALA%20BECERRA,%20ERNESTO.pdf)

BENÍTEZ GONZÁLEZ, María José. *Diagnóstico de Brucelosis (Brucella) Bovina (bóvidos) mediante anigen rapid b. Brucella ab. test kit en vacas lecheras del camal municipal del cantón Ambato de la provincia del Tungurahua* [En línea] (Tesis) (Pregrado). (Trabajo de Investigación) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agronómica, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cevallos-Ecuador. 2013. p 2. [Consulta: 2016-08-15]. Disponible en:
<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8251/1/Tesis%2022%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20299.pdf>

CARÁMBULA, P *Brucelosis*, 2010 [Consulta: 2016-08-15]. Disponible en:
<http://www.sanar.org/enfermedades/brucelosis>

CASTAÑO AROCA, María Jesús. *Brucelosis crónica y persistencia de ADN de Brucella melitensis* [En línea] (Tesis) (Doctoral) Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina, Madrid. 2010. pp. 57-58. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en:
https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/6156/37495_casta%C3%B1o_aroca_maria_jes%C3%BA.pdf?sequence=1

CASTRO, H. et al. *Brucelosis Acta bioquímica clínica latinoamericana*, [En línea] 2005, Buenos Aires 39 (2) pp. 1-13 [Consulta: 2016-08-15]. ISSN 1851- 6114 Disponible en:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000200008

CUENCA JARAMILLO, Diego Marcelo. *“Estudio epidemiológico de Brucelosis Humana y animal en la hacienda San Antonio, ESPE-Santo Domingo”* [En línea] (Tesis) (Pregrado). Escuela Politécnica Del Ejército, Departamento De Ciencias De La Vida, Carrera De Ingeniería Agropecuaria, Santo Domingo, Ecuador, 2013.p 56. [Consulta: 2016-11-01]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6904/1/T-ESPE-002485.pdf>

DÍAZ, A. *La convergencia entre la salud pública, la salud animal y el ambiente en las comunidades y los territorios rurales* [En línea], San José- Costa Rica, 2010. [Consulta: 2016-07-11]. Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=6cwpIDa4xc0C&pg=PT46&dq=sintomas+de+brucelosis+en+el+animal&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjT1ob_je3OAhWD8x4KHSYWCOwQ6AEIRzAJ#v=onepage&q=sintomas%20de%20brucelosis%20en%20el%20animal&f=false

ELIKA, *Brucella* [en línea]. Vías de transmisión: [Consulta: 16 de Junio 2016]. Disponible en:
http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento98/11.Brucella.pdf

FEDERACIÓN COLOMBIANA DE GANADEROS (FEDEGAN) *Programa de Prevención, Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.fedegan.org.co/programas/programa-de-prevencion-control-y-erradicacion-de-la-brucelosis-bovina>

FRENCH AGENCY FOR FOOD, ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH & SAFETY (ANSES) *Brucella spp.* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <https://www.anses.fr/en/content/brucellosis>

GALENDE, Inés. *La ética en investigación clínica: La Declaración de Helsinki-* Seúl 2008, JANO, 1.754, 2009, Madrid-España. pp. 35-41.

GARCÍA VÁSQUEZ, Zulma Jannette. “*Factores De Riesgo Para Brucelosis Como Enfermedad Ocupacional “Revisión Documental”* [En línea] (Tesis) (Pregrado) Pontificia Universidad Javeriana, Facultad De Enfermería Y Facultad De Medicina, Especialización En Salud Ocupacional, Bogotá. 2007, p. 56 [Consulta: 2016-07-11]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/enfermeria/tesis42.pdf>

GONZÁLEZ, Carlos. *Artritis Infecciosas* [En línea]. Buenos Aires: Medica Panamericana 2006 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=466PekqtFPcC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

GUÍA PARA EL EQUIPO DE SALUD *Enfermedades infecciosas Brucelosis* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA) *Pruebas para el diagnóstico de brucelosis en Colombia.* [Consulta: 2016-08-19]. Disponible en: [http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Enfermedades-Animales/Brucelosis-Bovina-\(1\)/Brucelosis-Bovina4.aspx](http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Enfermedades-Animales/Brucelosis-Bovina-(1)/Brucelosis-Bovina4.aspx)

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION NTE INEN 0009-2012 *Leche Cruda, 2008* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0009.2008.pdf>

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION NTE INEN 1528 *Norma General Para Quesos Frescos No Madurados. Requisitos. 2012* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1528.2012.pdf>

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS (INIFAP) *Prevención de Brucelosis en Rumiantes* [Consulta: 2016-09-19]. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D12404.PDF>

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD *Informe Final Brucelosis Humana Datos Retrospectivos En Colombia* [Consulta: 2016-10-09]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiolgico/Brucelosis%20Humana%202009.pdf>

INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. *Brucella spp.* [Consulta: 2016-10-09]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/enfermeria/tesis42.pdf>

INTRIAGO ZAMBRANO, Héctor Leonardo, δ MENDOZA BOMBÓM David Esteban, *Estudio epidemiológico de brucelosis humana y animal en cuatro comunidades de pequeños ganaderos de Santo Domingo de los Tsáchilas,* [En línea] (Tesis) (Pregrado), Universidad de las fuerzas armadas, Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Carrera de Ingeniería Agropecuaria Santo Domingo, Santo Domingo de los Tsáchilas, 2015. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10231/1/T-ESPE-002776.pdf>

JARAMILLO BENAVIDES, Vanessa Alejandra δ YÉPEZ JÁCOME, Cristina Vanessa. *“Determinación de Seroprevalencia de Brucelosis Bovina en la provincia de Pastaza y posibles factores de riesgo asociados con la enfermedad”* [En línea] (Tesis) (Pregrado), Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Escuela De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. (Quito). 2013. p.19 [Consulta: 2016-09-14]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3127/1/T-UCE-0014-54.pdf>

KRESSLER BERAHA, Nicole Marie. *Estudio de prevalencia de Brucella spp en caninos (canis familiaris), en el sector de Ancholag, parroquia Juan Montalvo, en el cantón Cayambe, provincia de Pichincha, Ecuador* [En línea] (Tesis) (Trabajo de Investigación) Universidad de las Américas, Facultad de Ciencias de la Salud, Pichincha-Ecuador. 2014. p 9. [Consulta: 2016-06-15]. Disponible en: [file:///C:/Users/HP/AppData/Local/Temp/UDLA-EC-TMVZ-2014-13\(S\).pdf](file:///C:/Users/HP/AppData/Local/Temp/UDLA-EC-TMVZ-2014-13(S).pdf)

LAWINSKY, M. “Estado del arte de la brucelosis en humanos”. *Pan-Amazônica de Saúde* [en línea], 2010, (Brasilia) 1(4), p. 77. [Consulta: 16 de Junio 2016]. ISSN 2176-6223. Disponible en: <http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/rpas/v1n4/v1n4a12.pdf>

LÓPEZ, Ahidé. *Brucella* [En línea], [Consulta: 2016-08-17]. Disponible en: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap7/>

LUGO, A. et al. “Brucelosis Humana en estudiantes de la Escuela de Bioanálisis, Universidad De Los Andes-Venezuela”. *Revista Salud Publica y Nutrición RESPYN* [En línea], 2010, (Mérida -Venezuela) 11 (4), pp.2-4. [Consulta: 2016-06-27]. Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/xi/4/articulos/brucelosis_humana.htm

MARJ. *Cuida a tu mascota, cuida a tu hijo* [En línea]. Barcelona-España: 2016. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=LBbLDAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

MARTÍNEZ, P. “Brucelosis Humana: situación epidemiológica en Chile, 2001-2010”. *Chilena Infectol* [en línea], 2013, (Chile) 30(6), p. 1. [Consulta: 13 de Junio 2016]. ISSN 653-659. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v30n6/art13.pdf>

MINISTERIO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA Y TELECOMUNICACIONES *Método Delphi* [Consulta: 2016-11-02]. Disponible en: http://www.innovacion.cr/sites/default/files/article/adjuntos/herramientas_practicas_para_innovacion_1.0_metodo_delphi.pdf

MINISTERIO DE SALUD BUENOS AIRES REPÚBLICA DE ARGENTINA *¿Qué son las zoonosis?* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en:

<http://www.msal.gob.ar/zoonosis/index.php/informacion-para-adolescentes/ique-son-las-zoonosis>

MINISTERIO DE COORDINACION DE LA PRODUCCION, EMPLEO Y COMPETITIVIDAD *Agendas para la transformación productiva territorial provincia de Chimborazo.* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/02/AGENDA-TERRITORIAL-CHIMBORAZO.pdf>

MINISTERIO DE SALUD GOBIERNO DE CHILE *Brucelosis* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: http://www.seremidesaludbiobio.cl/epidemiologia/archivos/normativa/circular_brucelosis.pdf

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR. *Boletín Epidemiológico Zona 3 Salud Anual 2015*

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD *Zoonosis y Medio Ambiente* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/Y4962T/y4962t05.htm>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE) *Brucelosis* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D13939.PDF>

ORTIZ PEÑALOZA, Diego Vinicio. *Prevalencia de Brucelosis en Bovinos del Camal Municipal Frigorífico de Ambato* [En línea] (Tesis). Universidad Técnica de Ambato, Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootecnia, (Cevallos-Ecuador). 2016. p. 14 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/20943/1/Tesis%2046%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20391.pdf>

PÉREZ, A. *Brucelosis* [blog]. 4 de Octubre, 2014. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: http://skorpiomenlamedicina.blogspot.com/2014/10/brucelosis_4.html

PEREZ GONZALEZ, Oscar. *Diagnóstico de Brucella spp en cabras de establos lecheros de la comarca lagunera* [En línea] (Tesis). (Trabajo de Investigación) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón-Coahuila-México. 2011. pp. 5-6. [Consulta: 2016-06-22]. Disponible en:

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3148/OSCAR%20PEREZ%20GONZALEZ.pdf?sequence=1>

PÉREZ, Juan C. *En ocho provincias se concentra el mayor consumo de cárnicos “Líderes”* 2015. pp. 1-4. [Consulta: 2016-11-01]. Disponible en: <http://www.revistalideres.ec/lideres/consumo-carnicos-ecuador.html>

POZO ROSERO, Maicol Darío δ NOROÑA CHANGOLUISA, Gabriela Elizabeth. *“Determinación de Brucelosis Bovina (*Brucella abortus*) con la prueba rosa de bengala en la asociación “Unión libre” de la parroquia 10 de agosto provincia de Pastaza”* [En línea] (Tesis) (Pregrado), Universidad Técnica De Cotopaxi, Unidad Académica De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Medicina Veterinaria y Zootecnia.(Latacunga). 2011. P. 11 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/662/1/T-UTC-0527.pdf>

RAMOS, Javier. *Infectología Clínica* [En línea]. 2da Edición. México: El Manual Moderno 2012 [Consulta: 2016-09-29]. Disponible en:

<https://books.google.com.ec/books?id=jqXKCQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

RIVERS, A. et al *Brucelosis* [En línea] [Consulta: 2016-11-01]. Disponible en: <http://es.healthline.com/health/brucelosis#Informacióngeneral1>

RODRÍGUEZ, A. *Enfermedades transmisibles por ingestión de leche cruda* [En línea], Paraguay [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.abc.com.py/edicion-impresa/suplementos/abc-rural/enfermedades-transmisibles-por-ingestion-de-leche-cruda-834091.html>

RON-ROMÁN J., et al. *Human bucellosis in North-West Ecuador: typifyng of *Brucella spp.*, seroprevalence, and associated risk factors* [En línea] Quito. pp. 2-18 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en:

https://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/148986/1/Risk_Bru_Human_Ecuador_Full.pdf

ROVID, A. *Enfermedades emergentes y exóticas de los animales* [en línea]. 2010. [Consulta: 16 de Junio 2016]. Disponible en:

https://books.google.com.ec/books?id=s1R6wsyeT4IC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=pais&f=false

SECRETARÍA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO *Plan Nacional del Buen Vivir. 2013.* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://documentos.senplades.gob.ec/Plan%20Nacional%20Buen%20Vivir%202013-2017.pdf>

SISTEMA POTOSINO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA. *Brucella spp.* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/03_2012_Manual_Brucelosis_vFinal_13nov12.pdf

SRIGLIO, Juan. “Brucelosis”. *Bioanálisis* [En línea], 2007, p.20 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota3_13.pdf

THE CENTER FOR FOOD SECURITY & PUBLIC HEALTH *Brucelosis* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf>

VALENZUELA ORTIZ, Claudia María. *Determinación de anticuerpos contra Brucella abortus en personal de lecherías adscritas a la cámara de productores de leche* [En línea] (Tesis). (Trabajo de Investigación) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria, Guatemala. 2011. pp 8-9. [Consulta: 2016-06-27]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2981/1/Tesis%20Med%20Vet%20%20Claudia%20Valenzuela.pdf>

THE CENTER FOR FOOD SECURITY & PUBLIC HEALTH *Enfermedades Emergentes y Exóticas de los Animales* [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Products/enfermedades-emergentes-y-exoticas-de-los-animales-preview.php?lang=es>

VARELA, M. *Descripción y usos del método Delphi en investigaciones del área de salud, “Metodología de investigación en educación médica”* [En línea], 2012, (México) (1) pp. 91-92 [Consulta: 2016-06-09]. Disponible en: http://riem.facmed.unam.mx/sites/all/archivos/V1Num02/07_MI_DESCRIPCION_Y_USOS.PDF

VILLAMAR MARTÍNEZ, Yamil Antonio. *Prevalencia de Brucelosis bovina en fincas ganaderas del cantón Pasaje* [En línea] (Tesis). (Trabajo de Investigación) Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Machala-El Oro-Ecuador. 2014. pp. 19-20. [Consulta: 2016-06-17]. Disponible en: http://repositorio.utmachala.edu.ec/jspui/bitstream/48000/1529/7/CD538_TESIS.pdf

WORLD HEALTH ORGANIZATION *Brucellosis in humans and animals* [Consulta: 2016-09-19]. Disponible en: <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>

ZABALA, Carmen δ BARRAGÁN Verónica, et al. *Presencia de Brucella sp. en cabras de la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador* [En línea]. Quito: D.F. Cisneros-Heredia, 2012 [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: http://www.usfq.edu.ec/publicaciones/avances/archivo_de_contenidos/Documents/volumen_4_numero_2/B9-4-2-2012.pdf

ZAMBRANO, Dalia M.; PÉREZ, Miguel. “*Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador*”. *Salud Animal* [En línea], 2015, (Ecuador) 37(3), pp. 1-9. [Consulta: 2016-06-19]. Disponible en: <file:///C:/Users/HP/Downloads/tesis%20en%20ecudor%20manabi%20articulo.pdf>

ZAMBRANO AGUAYO, Marina Dalia; PÉREZ RUANO, Miguel. *Seroprevalencia de brucelosis en ganado bovino y en humanos vinculados a la ganadería bovina en las zonas norte y centro de la provincia Manabí, Ecuador.* *Revista de Salud Animal*, 2015, vol. 37, no 3, p. 164-17

ANEXOS

Anexo A. Casos de Brucelosis Humana Año 2014-02015

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 COORDINACION ZONAL SALUD 3, 2016)

Anexo B. Consentimiento informado de estudio de Brucelosis Humana



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 BIOQUÍMICA Y FARMACIA DE LA ESPOCH" realizado por la Srta. Gina Oñate. 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. Encuesta epidemiológica



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



La presente encuesta forma parte del proyecto de investigación “DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella spp* EN MUESTRAS DE SANGRE DE LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA DE LA ESPOCH” por ende sus respuestas deben ser las más reales posibles.

Sexo: F M

Edad:

1. ¿Cuál es su lugar de procedencia?

2. ¿Usted consume productos lácteos sin pasteurizar?

Sí

No

Si su respuesta es afirmativa

3. ¿Con que frecuencia consume leche cruda?

Diaria

Semanal

Mensual

Esporádica

4. ¿En dónde adquiere la leche que consume?

Supermercados

Mercados

Tiendas

Vendedores ambulantes

5. ¿Con qué frecuencia consume queso fresco?

Diaria

Semanal

Mensual

Esporádica

6. ¿En qué lugar adquiere este producto?

Supermercados

Mercados

Tiendas

Vendedores ambulantes

7. ¿Usted consume carne de res?

Sí

No

Si su respuesta es afirmativa

8. ¿Con que frecuencia lo hace?

Diaria

Semanal

Mensual

Esporádica

9. ¿En dónde adquiere este producto?

Supermercados

Mercados

Tiendas

Vendedores ambulantes

10. ¿Usted o su familia tiene ganado vacuno?

Sí

No

11. Si su respuesta es afirmativa ¿Cuántos animales?.....

12. ¿Usted ha tenido contacto directo o cercano con animales vacunos?

Sí

No

Anexo D. 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 E: Recopilación fotográfica sobre el procedimiento del análisis de muestras



Fotografía 1-3: Materiales para la extracción de Sangre

Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 2-3: Extracción de sangre

Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 3-3: Centrifugación de las muestras

Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 4-3: Separación del suero sanguíneo
Tomada por: Gina Oñate



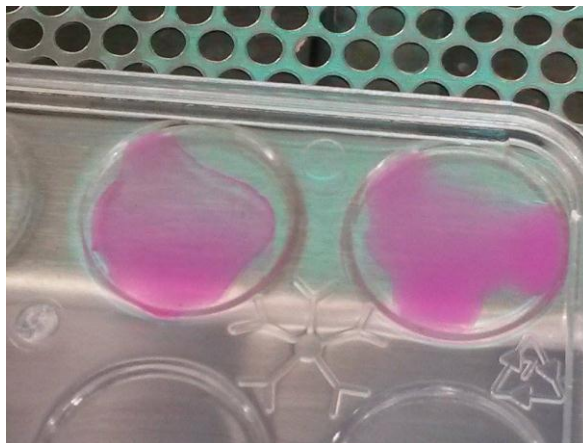
Fotografía 5-3: Suero sanguíneo en los eppendorf
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 6-3: Sueros sanguíneos en congelación
Tomada por: Gina Oñate



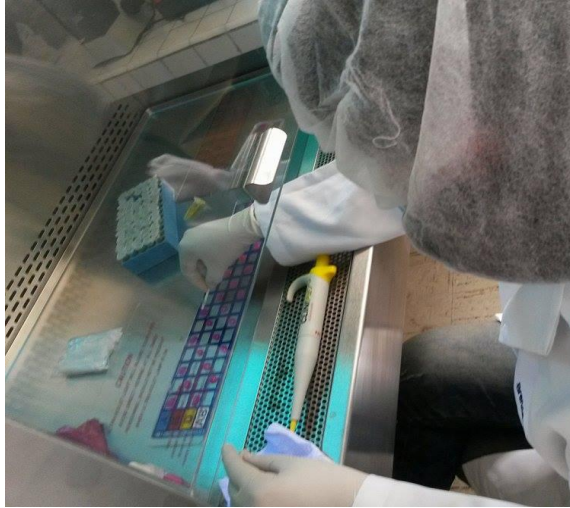
Fotografía 7-3: Reactivos Prueba Rosa de Bengala
Tomada por: Gina Oñate



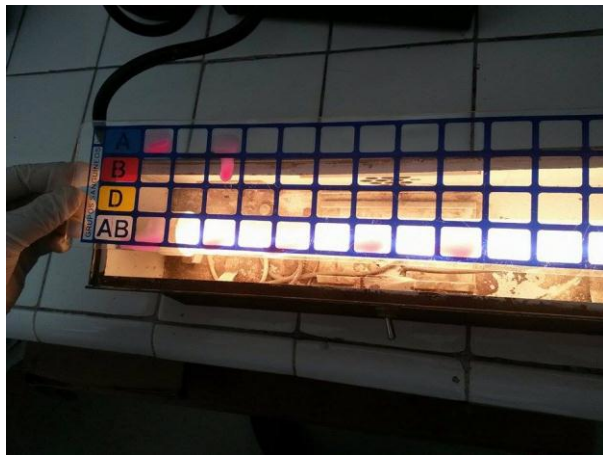
Fotografía 8-3: Pruebas control Rosa de Bengala
izquierdo (+) derecho (-)
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 9-3: Análisis de muestras con reactivo
Rosa de Bengala
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 10-3: Homogenización de las muestras con el reactivo Rosa de Bengala
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 11-3: Observación frente a una unidad de lectura para aglutinación
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 12-3: Reactivos para la prueba 2-mercaptoetanol
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 13-3: Pruebas control para el reactivo 2-mercaptoetanol
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 14-3: Análisis de muestras con el reactivo 2-mercaptoetanol
Tomada por: Gina Oñate



Fotografía 15-3: Muestras de sueros en la estufa
Tomada por: Gina Oñate