



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS DE GRADO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD:

INVESTIGACIÓN DIAGNOSTICA O PROPOSITIVA

TEMA:

“DETECCIÓN DE BRUCELOSIS EN PERROS QUE SE ENCUENTRAN EN LOS
ALREDEDORES DE LOS MATADEROS MUNICIPALES DE LA PROVINCIA DE
MANABÍ”

AUTORES:

JENNIFER MARISELA PACHECO VILA
JORGE EMILIANO TEPÚ RUEDA.

DIRECTOR DE TESIS:

DR. VÍCTOR MONTES ZAMBRANO

PORTOVIEJO – MANABI – ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, certifica que la tesis en la Modalidad Investigación Diagnóstica o Propositiva, titulada: “**DETECCIÓN DE BRUCELOSIS EN PERROS QUE SE ENCUENTRAN EN LOS ALREDEDORES DE LOS MATADEROS MUNICIPALES DE LA PROVINCIA DE MANABÍ**”, es trabajo original de las Sra. Egresada Jennifer Marisela Pacheco Vila y el Sr. Jorge Emiliano Tepú Rueda, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Dr. Víctor Montes Zambrano

DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TEMA:

**“DETECCIÓN DE BRUCELOSIS EN PERROS QUE SE ENCUENTRAN EN
LOS ALREDEDORES DE LOS MATADEROS MUNICIPALES DE LA
PROVINCIA DE MANABÍ”**

TESIS DE GRADO

Sometida a consideración del Tribunal y Sustentación y Legalización por el Honorable Concejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL TRIBUNAL

Dr. Pablo Zambrano Rodríguez
DECANO-PRESIDENTE

Dr. Víctor Montes Zambrano
DIRECTOR DE TESIS

M.V.Z. Juan Zambrano Villacis
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Marina Zambrano Aguayo
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Pablo Zambrano Rodríguez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Los resultados obtenidos en el siguiente Trabajo, así como las ideas, conclusiones y recomendaciones, son de propiedad única total y exclusividad de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo.

AUTORES:

.....
Sra. Jennifer Marisela Pacheco Vila

.....
Sr. Jorge Emiliano Tepú Rueda.

RESUMEN

La Brucelosis es una de las mayores enfermedades Zoonóticas a nivel mundial, figura en el código sanitario para los animales terrestres de la OIE de notificación obligatoria, la presente investigación tuvo como objetivo detectar la presencia de Brucelosis en canes que se encuentran en los alrededores de los Mataderos municipales de la Provincia de Manabí. Mediante la aplicación de tres pruebas diagnósticas como son : Rosa de Bengala, Inmunocromatografía y Elisa competitiva; el mismo que se realizó en 16 de los 21 Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, llegándose a muestrear 115 perros que se encontraban en los alrededores de los mataderos y consumían despojos de la faena, llegando a obtener los siguientes resultados: el 14,78% (17/115) resultaron positivos a Brucelosis mediante la prueba de Rosa de Bengala (IC al 95% 8,3 – 21,27); el 6,90% (8/115) positivos a la prueba de Inmunocromatografía (IC al 95% 2,31 -11,61) y el 1,74% (2/115) positivos a Elisa Competitiva (IC al 95 % 0,65 – 4,13). No existió diferencias significativas $P > 0,05$ en la presentación de la enfermedad en relación a sexo, y edad de los animales enfermos.

SUMMARY

Brucellosis is one of the largest worldwide Zoonotic diseases, appears in Animal Health Code of the OIE Terrestrial mandatory reporting, the present study aimed to detect the presence of brucellosis in dogs that are in the vicinity of the municipal slaughterhouses Manabí Province. Through the application of three diagnostic tests are: Rose Bengal, Immunochromatography and competitive Elisa, the same that was performed in 16 of the 21 Municipal Slaughterhouses Manabí Province, reaching 115 dogs sampled were in the vicinity of the abattoirs and slaughter offal consumed, leading to obtain the following results: 14.78% (17/115) were positive for brucellosis by the Rose Bengal test (95% CI 8.3 to 21.27); he 6.90% (8/115) positive immunochromatography test (95% CI 2.31 -11.61) and 1.74% (2/115) Competitive Elisa positive (95% 0 , 65 - 4:13). There was no significant difference $P > 0.05$ in the presentation of the disease in relation to sex and age of the animals sick.

1. OBJETIVOS:

4.1 OBJETIVO GENERAL

4.1.1 Detectar la presencia de Brucelosis en perros que se encuentran en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia de Manabí

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

4.2.1. Detectar casos positivos de *Brucella abortus* en los perros mediante la prueba de Rosa de Bengala (RB).

4.2.2. Establecer casos positivos de *Brucella canis* en los perros mediante la prueba de Inmunoensayo de Cromatografía (kit Ab).

5.2.3. Determinar casos positivos de Brucelosis en los perros mediante la prueba de Elisa Competitiva.

5.2.4. Entregar y Difundir los resultados obtenidos del proyecto a la Dirección Provincial de Salud para que se tome las medidas preventivas y correctivas.

6. DISEÑO METODOLOGICO

8.1 UBICACIÓN GEOGRAFICA DE LA INVESTIGACION

La presente investigación se realizó en los Alrededores de los 16 Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, 24 de Mayo, Calceta, Chone, Jama, Jipijapa, Junín, Olmedo, Paján, Pichincha, Puerto López, Rocafuerte, San Vicente, Santa Ana, Tosagua, los mismos que tienen las características de no tener cerramiento lo que permite el ingreso de animales dentro de los procesos de faena, a pesar que los mataderos de Portoviejo y El Carmen tienen cerramiento los perros tienen acceso a las instalaciones. Se excluyen a los Mataderos de Manta, Montecristi, Sucre (Bahía de Caráquez) y Pedernales por poseer los tres primeros estructura de cerramiento y el último por encontrarse aislado de la zona poblada. Flavio Alfaro no posee Matadero Municipal. Véase Anexo n° 1

8.2 TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación fue documental, bibliográfica, exploratoria y de campo.

8.3 DURACION

La investigación de campo se realizó entre los meses de Enero a Febrero del 2013, en los mataderos Municipales donde se llevó a efecto la identificación, recopilación de las historias clínicas (Véase en anexo N° 4), toma de muestra sanguínea y el procesamiento de las muestras en el laboratorio.

8.4 MUESTRA.

El número de animales muestreados fue de 115 animales que se encontraron en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, y que consumen despojos del faenamiento.

8.5 VARIABLES A MEDIR

N° de perros positivos

Identificar presencia de los tipos de *Brucellosis*:

- *Brucella abortus*.
- *Brucella melitensis*.
- *Brucella canis*.

8.6 MATERIAL EXPLORATIVO

Se realizó bajo dos procedimientos:

- 1.- Identificación de los animales
- 2.- Recepción de muestras sanguíneas y llenado del historial clínico.

8.6.1 REGISTRO Y LEVANTAMIENTO DE ENCUESTA EN LOS MATADEROS MUNICIPALES DE LA PROVINCIA DE MANABÍ.

Como actividad previa a esta investigación se llevó a cabo un estudio de la presencia de perros en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí. Véase en Anexo n° 3

Se realizó las encuestas a los administradores o médicos veterinarios encargados de estos lugares. El formulario estuvo orientado al proceso de la faena y el tratamiento de desechos. Véase en Anexo n° 2.

8.6.2 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS PARA EL DIAGNOSTICO CLÍNICO EN EL LABORATORIO.

Una vez realizada la identificación de los perros que se alimentan con despojos del sacrificio de los animales se los selecciono para extraer 5 ml de sangre de la vena radial para luego ser colocada en un tubo de ensayo sin anticoagulante, se envió un numero

de 115 muestras al laboratorio de Investigaciones Veterinarias Luis Flor Cedeño de la Universidad Técnica Manabí donde se realizó dos pruebas : Rosa de Bengala (*Brucella abortus* y *Brucella melitensis*) y de Cromatografía (*Brucella canis*), de la misma manera se remitió las muestras al laboratorio VETELAB de la ciudad de Quito donde se realizó una tercera prueba, Elisa competitiva que determina casos agudos o crónicos para (*Brucella abortus* y *Brucella melitensis*).

8.6.3 METODO DE CAPTURA DE LOS PERROS.

La captura de los perros se realizó en horas del faenamiento, donde se identificaron los domicilios de los perros que consumían desechos de la faena, se los capturó con ayuda de los dueños, inmovilizándolos para la extracción de 5ml de sangre, se recurrió en algunos casos a la sedación cuando los animales eran muy nerviosos.

8.7 PROCEDIMIENTO METODOLOGICO DE LA INVESTIGACION.

Las pruebas que se utilizaron para el diagnóstico de brucelosis fueron de tipo serológica mediante la **PRUEBA DE ROSA DE BENGALA** que se utilizó como prueba tamiz para *Brucella abortus* o *Brucella melitensis*, como **PRUEBA CONFIRMATORIA ELISA COMPETITIVA** y se determinó la existencia o ausencia de *Brucella canis* mediante la **PRUEBA DE INMUNOCROMATOGRAFÍA**.

8.7.1 TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN CON LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA (RBT)

Es una prueba tamiz, de gran difusión, sensible, rápida y económica. El bajo pH del antígeno favorece la aglutinación de los anticuerpos del isotipo IgG. Es una prueba cualitativa y se interpreta como positiva o negativa. Se requiere una muestra con suero límpido, no hemolizado.

Según Ana M. Et al. (2009), La prueba de Rosa de Bengala tiene una sensibilidad del 94% y una especificidad del 100%.

8.7.1.2 MATERIALES

- Aglutinoscopio
- Gotero para antígeno
- Antígeno para la prueba de aglutinación en placa o rosa de bengala.
- Reloj
- Pipeta de bang graduada
- Palillos de dientes
- Agua destilada
- Suero sanguíneo

8.7.1.3. TÉCNICA

La ejecución del Ensayo de Rosa de Bengala se realizó así:

1. Se colocó la placa de Vidrio (limpia y seca) sobre el Aglutinoscopio.
2. Con la Micropipeta apoyada sobre la placa de vidrio, se depositan 30 ul de suero. Se utilizó un compartimiento para cada suero.
3. Con la micropipeta se descargó 30 ul de antígeno próximo a la gota de suero.
4. Se mezcló bien, con los palillos de dientes, el suero con el antígeno, abarcando una superficie circular.
5. Se retiró la placa del vidrio y se imprimen movimientos en forma rotativa durante 4 minutos a razón de 10 a 12 movimientos por minuto de forma manual.
6. Finalizados los 4 minutos y rotando la placa sobre la caja de lectura o aglutinoscopio con la luz encendida, se procede a la lectura.

8.7.1.4 INTERPRETACION

- Las lecturas deben efectuarse dentro los 8 minutos siguientes al ser iniciado el procedimiento.
- No aglutinación: Prueba negativa.

- Cualquier grado de aglutinación: Prueba positiva

8.7.1.5 PRECAUCIONES

- El antígeno se mantiene en refrigeración a una temperatura de 4°C a 8°C., evitando su congelación

8.7.2 INMUNOENSAYO DE CROMATOGRAFIA (KIT DE PRUEBA RÁPIDA ANIGEN PARA ANTICUERPOS CONTRA C. BRUCELLA.)

8.7.2.1. FUNDAMENTO DEL TEST

El Kit de prueba rápida para anticuerpos de C. Brucella es un Inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de Anticuerpos de Brucella presenta las letras T y C que significan “línea de test” y “línea de control” en la superficie del kit. Tanto la “línea de Test” como la “línea de Control” no son visibles antes de haber aplicado las muestras. La “línea de control” deberá aparecer en todo momento si el procedimiento se efectúa correctamente y si los reactivos de control del test están funcionando bien. En la ventana de resultados se hará visible una “línea de test” de color púrpura si existen suficientes anticuerpos de Brucella canis en la muestra.

En el test se utilizan antígenos de Brucella canis especialmente seleccionados, tanto como materiales de captura como materiales detectores. La Prueba de Inmunocromatografía tiene una sensibilidad del 93% y una especificidad del 100 %

8.7.2.2. MATERIALES SUMINISTRADOS

El kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra C. Brucella contiene los siguientes Items para realizar la prueba.

1. Diez (10) Kits(cassettes) del Test Rápido Anigen para anticuerpos de C. Brucella
2. Un frasco de Diluyente de la prueba de 3 ml
3. Diez(10) tubos capilares de 20 ul

8.7.2.3 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO.

1. [Sangre completa] Recolecte la sangre completa usando un anticoagulante apropiado. Use la sangre completa a más tardar un día después de haber recolectada. No use sangre de hemólisis.
2. [Suero o plasma] centrifugué la sangre completa para obtener la muestra de plasma o suero.
3. Si las muestras no se someten al test inmediatamente deben refrigerarse a 2 a 8 °C. Para periodos de almacenamiento mayores a 3 días, congele la muestra a -20°C o a menor temperatura (suero o plasma). Las muestras deben elevarse a la temperatura ambiente antes de usarse.
4. Las muestras que contengan precipitado pueden arrojar resultados de test inconsistentes. Estas muestras deben clarificarse antes de realizarse el test. Si los precipitados son atribuibles a contaminación bacteriana la muestra no debe procesarse.

8.7.2.4. PROCEDIMIENTOS DEL TEST

1. Se extrajo el kit de Test de la bolsa de papel aluminio y colóquela en una superficie plana y seca.
2. Se recolectó 10 ul de sangre completa hasta llegar a la línea oscura marcada por el tubo capilar.
3. Se agregó lentamente 10 ul de suero al pozo de la muestra con el tubo capilar de la línea marcada para un volumen de 10 ul y a continuación se colocó 2 gotas (aprox. 60 ul) con el frasco que contiene el buffer del diluyente. Si no se ha observado migración en 1 minuto, agregamos una gota de buffer al pozo de la muestra.
4. Como los resultados de la prueba, en la ventana de los resultados del kit se podrá observar una banda de color púrpura.
5. Se interpretó los resultados del test en los siguientes 20 minutos.

8.7.2.5. INTERPRETACIÓN DEL TEST

1. Aparecerá una banda de color púrpura en la parte izquierda de la ventana de resultados para indicar que el test está funcionando correctamente. Esta es la línea de Control [C]
2. La sección derecha de la ventana de los resultados indica el resultado del test. Si en la sección derecha de resultados aparece una banda de otro color, se trata de la línea de Test [T].

Negativo: Presencia únicamente de una banda púrpura en la ventana de resultados indica un resultado negativo.

Positivo: Presencia de dos bandas de color (banda “T” y banda “C”) en la ventana de resultados, sin importar cuál aparezca primero. Indica un resultado positivo.

Inválido: Si después de efectuado el test, no aparece la banda púrpura en la ventana de resultado, el resultado se torna inválido, es posible que no hayan seguido correctamente las instrucciones o el test puede haberse detenido. Se recomienda volver a realizar el test para la muestra.

6.7.3. TÉCNICA DE ELISA COMPETITIVA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA BRUCELLA.

8.7.3.1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La técnica de Elisa Competitiva sirve para detectar anticuerpos contra *Brucella abortus* y *melitensis* presentes en el suero de animales tanto domésticos como salvajes.

En este método las muestras son expuestas a un lipo polisacárido proveniente de la membrana de la cepa lisa de *Brucella abortus* la cual se encuentra fijada en las placas, al adicionar el suero y los anticuerpos monoclonales de ratón (mAb) se genera una competencia; los anticuerpos monoclonales tienen un epítipo específico para este lipo polisacárido, por lo que reaccionarán con los anticuerpos presentes en el conjugado que posteriormente desarrollarán color en contacto con el sustrato, es decir a mayor

cantidad de anticuerpos presente en el suero, menor color desarrollará la reacción debido a la falta de anticuerpos ligados al antígeno. La sensibilidad es del 98% y la especificidad es del 100%

8.7.3.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- a) Se colocó todos los reactivos y sueros a temperatura ambiente (18 -25°C) antes de iniciar el ensayo.
- b) Se Diluyó los sueros y los controles directamente sobre la placa de reacción de la siguiente manera:

Nota: sumergido la punta en el diluyente, expulsar los 5 ul y retirar la pipeta.

- Se utilizó cuatro controles: Positivo, Positivo Débil, Negativo, control de Conjugado y el control interno.
 - Se colocó 45 ul de Diluyente de muestras en todos los pocillos en donde van a ir los controles y los sueros.
 - Se añadió 5 ul de los controles Positivo, Positivo débil y Negativo, en los lugares que les corresponde a dichos controles.
 - Se añadió 5 ul de Diluyente de muestras en el lugar que corresponde al control de conjugado (Cc)
 - Se añadió 5 ul del control interno en el pocillo correspondiente.
 - Añadimos 5 ul de cada uno de los sueros que van a ser analizados.
-
- a) Se añadió a todos los pocillos 50 ul de la solución mAb, tanto en controles con en los sueros.
 - b) Se cubrió la placa con papel aluminio.
 - c) Se Agitó la placa por 5 minutos.
 - d) Se incubó la placa a 18 – 25°C durante 30 min.
 - e) Se preparó solución de lavado e incubamos a 18 – 25°C, previo a su uso.

- f) Se lavó la placa 4 veces con la solución de lavado, utilizando 290 ul por pocillo y por vez.
- g) La solución de lavado sobrante colocamos a 18 – 25°C para su posterior utilización.
- h) Se Eliminó el exceso de líquido dando ligeros golpes sobre papel absorbente.
- i) Se añadió 100 ul de Conjugado, tapar e incubamos a 18-25°C durante 30 min.
- j) Al cabo de este tiempo nuevamente se realizó el lavado y el secado de la placa.
- k) Se Añadió 100 ul de Sustrato, tapar e incubar a 18 – 25°C durante 10 min. Se debe empezar a correr el tiempo desde el momento en que se coloca el sustrato en el primer pocillo.
- l) Se encendió el lector de Elisa y adecuarlo según lo especificado para este procedimiento.
- m) Se añadió 50 ul de solución Stop.
- n) Se realizó la lectura en el lector de Elisa utilizando el filtro de 450nm.

8.7.3.3. CALCULOS

Calcular el Porcentaje de Inhibición utilizando la siguiente fórmula:

$$PI = 100 - \frac{(OD \text{ muestra o control} \times 100)}{OD \text{ Control del Conjugado Cc}}$$

8.7.3.4. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Para que la prueba se pueda considerar válida se necesita que los controles estén dentro de estos valores:

CONTROL	VALOR
OD Cc	0.75 - 2.0

PI Control Positivo	80 - 100
PI Control Positivo débil	30 - 70
PI Control Negativo	(-10) - 15

8.7.3.5. INTERPRETACIÓN Y REPORTE

La Interpretación y el reporte de los resultados se harán de la siguiente manera tomando en cuenta el PI de cada suero:

Resultado

- < 30 % Negativo
- \geq 30 % Positivo

8.8. ANALISIS ESTADISTICOS

Para establecer los niveles de significancia entre las diferentes variables como son sexo y edad se utilizo X^2 CHI CUADRADO, para la prevalencia de la enfermedad a través de las diversas pruebas diagnosticas se aplicó un intervalo de confianza para proporción de una muestra con un nivel de significancia del 95% con $Z= 1.96$

9.- PRESENTACIÓN DE RESULTADOS, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.

9.1. CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES MUESTREADOS

9.1.1 CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES SEGÚN SU UBICACIÓN GEOGRAFICA

CUADRO # 1. Número de animales en los alrededores de los Mataderos de la Provincia de Manabí.

NUMERO DE LOS ANIMALES MUESTREADOS		
MATADEROS	NUMERO DE MUESTRAS	%
24 de Mayo	5	4,35
Calceta	12	10,43
Chone	5	4,35
El Carmen	7	6,09
Jama	11	9,57
Jipijapa	10	8,7
Junín	6	5,22
Olmedo	5	4,35
Paján	5	4,35
Pichincha	6	5,22
Portoviejo	5	4,35
Puerto López	9	7,83
Rocafuerte	5	4,35
San Vicente	9	7,83
Santa Ana	5	4,35
Tosagua	10	8,7
Sucre (Bahía de C)	0	0,0
Pedernales	0	0,0
Manta	0	0,0
Montecristi	0	0,0
Flavio Alfaro	0	0,0
Total	115	100,00

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

En el presente trabajo de investigación se muestrearon un total de 115 perros de los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, participando el cantón de Calceta con el 10,43%(11/115); Jama 9,57%(11/115); Jipijapa, Tosagua 8,70%(10/115); Puerto López, San Vicente 7,83%(9/115); Chone, El Carmen 6,09%(7/115); Junín 5,22%(6/115); los cantones 24 de Mayo, Olmedo, Paján, Pichincha, Portoviejo, Rocafuerte, Santa Ana 4,35%(5/115).

9.1.2. CARACTERISTICAS SEGÚN LA EDAD DE LOS ANIMALES MUESTREADOS

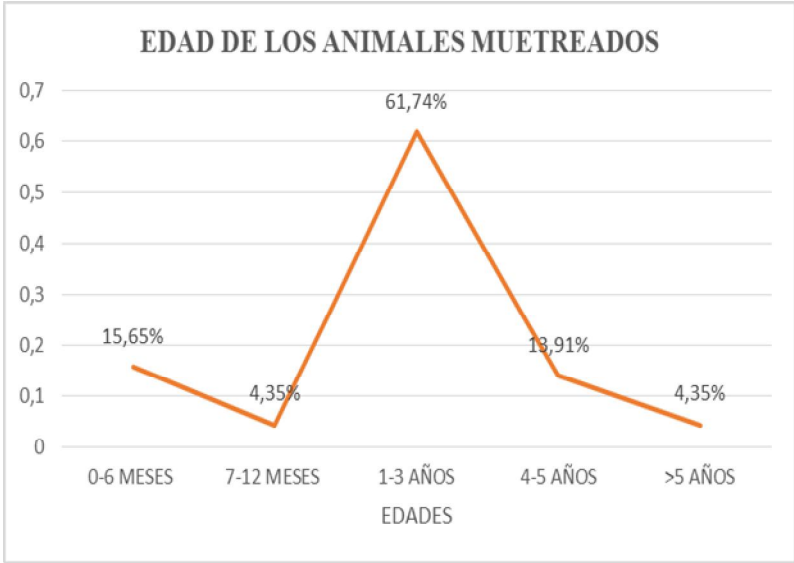
CUADRO # 2. Número de pacientes muestreados en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia de Manabí según la edad.

CARACTERISTICAS	0 - 6 MESES	7-11 MESES	1-3 AÑOS	4-5 AÑOS	>5 AÑOS	TOTAL
MUESTRAS	18	5	71	16	5	115
PORCENTAJES	15,65%	4,35%	61,74%	13,91%	4,35%	100,00%

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

De un total de 115 animales que fueron muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de Manabí, el 15,65%(18/115) correspondieron a edades entre 0 - 6 meses ; el 4,35% (5/115) entre 7 - 11 meses ; El 61,74 %(71/115) entre 1 - 3 años; el 13,91% (16/115);entre 4 - 5 años y el 4,35%(5/115) mayores de 5 años.

GRAFICO # 1. Edad de los animales muestreados en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia de Manabí.



9.1.3. CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES MUESTREADOS SEGÚN EL SEXO.

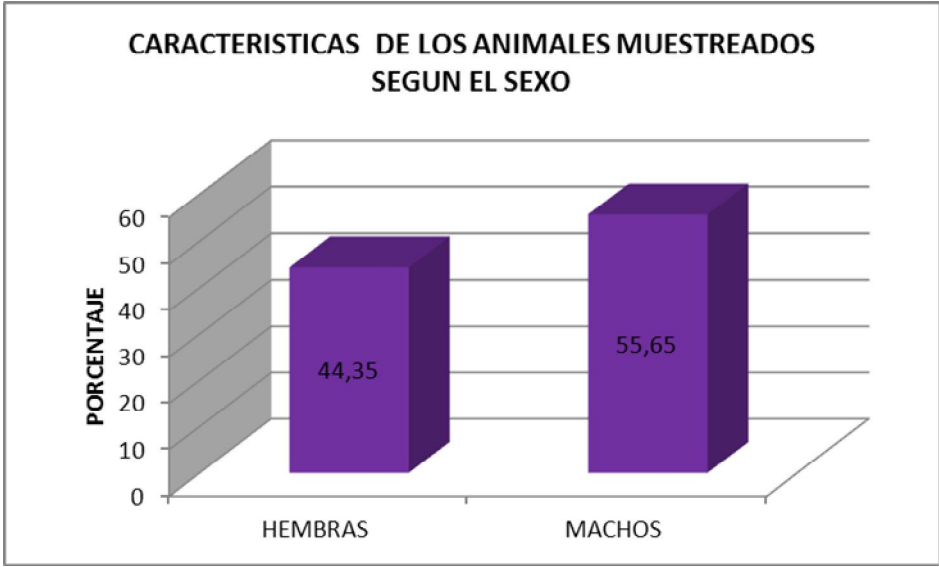
CUADRO # 3. Sexo de los pacientes muestreados en los alrededores de los Mataderos de la Provincia de Manabí

CANTONES	HEMBRAS		MACHOS		TOTAL	
	#	%	#	%	#	%
4 de Mayo	0	0,00	5	2,78	5	4,35
Calceta	6	5,22	5	4,35	12	10,43
Chone	1	0,87	4	3,48	5	4,35
El Carmen	3	2,61	4	3,48	7	6,09
Jama	6	5,22	5	4,35	11	9,57
Jipijapa	5	4,35	5	4,35	10	8,70
Junín	2	1,74	4	3,48	6	5,22
Olmedo	2	1,74	3	2,61	5	4,35
Pajan	3	2,61	2	1,74	5	4,35
Pichincha	4	3,48	2	1,74	6	5,22
Portoviejo	3	2,61	2	1,74	5	4,35
Puerto López	2	1,74	7	6,09	9	7,83
Rocafuerte	1	0,87	4	3,48	5	4,35
San Vicente	4	3,48	5	4,35	9	7,83
Santa Ana	3	2,61	3	2,61	5	4,35
Tosagua	6	5,22	4	3,48	10	8,70
Sucre	0	0,00	0	0,00	0	20,00
Pedernales	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Manta	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Montecristi	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Flavio Alfaro	0	0,00	0	0,00	0	0,00
TOTAL	51	44,35	64	55,65	115	100,00

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

De un total de 115 animales muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí se encontró que el 44,35%(51/115) fueron hembra y el 55,65%(64/115) fueron machos.

GRAFICO # 2 Sexo de los animales muestreados en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia de Manabí.



9.2. CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES POSITIVOS A BRUCELLA SPP.

9.2.1 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. abortus*) MEDIANTE LA PRUEBA DE ROSA BENGALA.

CUADRO # 4. Procedencia de los pacientes positivas a Brucelosis (*B. abortus*) mediante la Prueba a Rosa de Bengala.

ORIGEN DE LAS MUESTRA	NUMERO DE MUESTRAS	N° CANES POSITIVOS A ROSA DE BENGALA	%
24 de Mayo	5	3	60,00
Calceta	12	0	0,00
Chone	5	1	20,00
El Carmen	7	2	28,57
Jama	11	0	0,00
Jipijapa	10	0	0,00
Junín	6	2	33,33
Olmedo	5	1	20,00
Paján	5	2	40,00
Pichincha	6	2	33,33
Portoviejo	5	1	20,00
Puerto López	9	2	22,22
Rocafuerte	5	0	0,00
San Vicente	9	0	0,00
Santa Ana	5	1	20,00
Tosagua	10	0	0,00
Sucre	0	0	0,00
Pedernales	0	0	0,00
Manta	0	0	0,00
Montecristi	0	0	0,00
Flavio Alfaro	0	0	0,00
TOTAL	115	17	
PORCENTAJE	100,00%	14,78%	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

En los perros muestreados en los alrededores de los mataderos Municipales de la Provincia Manabí de un total de 115 perros, resultaron positivos a Brucelosis mediante la Prueba de Rosa de Bengala el 14,78% (17/115) a *Brucella abortus*.

De un total de 17 pacientes positivos a Brucelosis mediante la Prueba Rosa de Bengala, el 60,00%(3/5) de las muestras tomadas de los Matadero Municipal de 24 de Mayo resultaron positivas ; el 40,00%(2/5) a Paján y Pichincha; el 33,33% (2/6) a Junín; el

28,57%(2/7) al Carmen; el 22,22% a Puerto López y el 20%(1/5) corresponde a Chone, Olmedo, Santa Ana y Portoviejo respectivamente.

9.2.2 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. abortus*) MEDIANTE LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA SEGÚN EL SEXO.

CUADRO # 5. Sexo de los pacientes positivos a Brucelosis (*B. abortus*) mediante la prueba de Rosa de Bengala.

ORIGEN DE MUESTRA	NUMERO DE MUESTRAS	N° CANES POSITIVOS A ROSA DE BENGALA	HEMBRAS	MACHOS
24 de Mayo	5	3	0	3
Chone	7	1	0	1
El Carmen	7	1	0	1
Junín	6	2	0	2
Olmedo	5	2	0	2
Paján	5	2	2	0
Pichincha	5	2	2	0
Portoviejo	5	1	1	0
Puerto López	9	2	0	2
Santa Ana	5	1	0	1
Calceta	12	0	0	0
Jama	11	0	0	0
Jipijapa	10	0	0	0
Rocafuerte	5	0	0	0
San Vicente	9	0	0	0
Tosagua	10	0	0	0
Sucre	0	0	0	0
Pedernales	0	0	0	0
Manta	0	0	0	0
Manta	0	0	0	0
Montecristi	0	0	0	0
Flavio Alfaro	0	0	0	0
TOTAL	115	17	5	12
PORCENTAJE	100,00	14,78 %	29,41%	70,59%

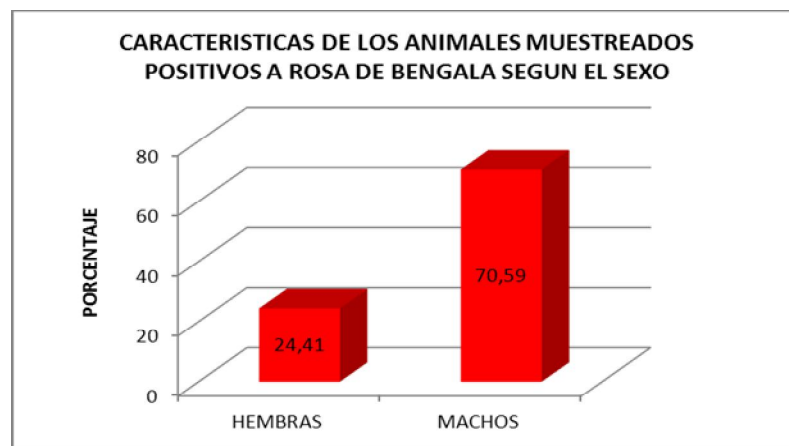
Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

X ² CALCULADO	X TABULAR		RESULTADOS
1,54	0,05	0,01	NS
	3,84	6,63	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

Del total de pacientes positivos a Brucelosis mediante la prueba de Rosa de Bengala, el 29,41 % (5/17) fueron hembras y 70,59 % (12/17) fueron machos. No existiendo diferencia significativa en la presencia de Brucelosis (*B. abortus*) en relación al sexo.

GRAFICO # 3. Sexo de los pacientes positivos a Brucelosis (*B. abortus*) mediante la prueba de Rosa de Bengala



9.2.3 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. abortus*) MEDIANTE LA PRUEBA ROSA DE BENGALA SEGÚN LA EDAD.

CUADRO # 6. Edad de los pacientes positivos a brucelosis (*B. abortus*) mediante la prueba de Rosa de Bengala.

CARACTERISTICAS	0-6 MESES	7- 11 MESES	1-3 AÑOS	4-5 AÑOS	> 5 AÑOS	TOTAL	PORCENTAJE
MUESTREADOS	18	5	71	16	5	115	100,00%
POSITIVOS	1	0	13	3	0	17	14,78%
PORCENTAJES	5,88%	0,00%	76,47%	17,65%	0,00%	100,00%	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

X ² CALCULADO	X TABULAR		RESULTADOS
3,28	0,05	0,01	NS
	9,49	13,3	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

De un total de 17 pacientes positivos a Brucelosis mediante la Prueba de Rosa de Bengala el 5,88% (1/17) correspondieron a edades de 0-6 meses; el 76,47% (13/17) entre 1 -3 años y el 17,65 % (3/17) entre 4-5 años; no existió diferencia significativa en la presencia de Brucelosis (*B. abortus*) en relación a las edades.

9.3 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. canis*) MEDIANTE LA PRUEBA DE INMUNOCROMATOGRAFIA SEGÚN SU UBICACIÓN GEOGRAFICA.

CUADRO # 7. Pacientes positivas a Brucelosis (*B. canis*) mediante la prueba de Inmunocromatografía según su Ubicación Geográfica.

NUMERO DE MUESTRAS SEROPOSITIVAS A INMUNOCROMATOGRAFIA (<i>B. canis</i>) SEGÚN SU PROCEDENCIA.			
ORIGEN DE LAS MUESTRA	NÚMEROS DE MUESTRAS	MUESTRAS POSITIVAS A LA PRUEBA DE CROMATOGRAFÍA (<i>B. canis</i>)	%
Jama	11	2	18,18
Chone	5	1	20,00
Jipijapa	10	3	30,00
Pichincha	6	1	16,67
Santa Ana	5	1	20,00
24 de Mayo	5	0	0,00
El Carmen	7	0	0,00
Junín	6	0	0,00
Olmedo	5	0	0,00
Portoviejo	5	0	0,00
Puerto López	9	0	0,00
Calceta	12	0	0,00
Jama	11	0	0,00
Rocafuerte	5	0	0,00
San Vicente	9	0	0,00
Tosagua	10	0	0,00
Sucre	0	0	0,00
Pedernales	0	0	0,00
Manta	0	0	0,00
Montecristi	0	0	0,00
Flavio Alfaro	0	0	0,00
TOTAL	115	8	
PORCENTAJE	100,0%	6,9%	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

De un total de 115 perros muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí resultaron positivos a la Prueba de Inmunocromatografía el 6,90 %. (8/115). Siendo las muestras de los mataderos que reaccionaron en mayor medida a esta prueba con el 30,00 % (3/10) el Cantón de Jipijapa; el 20,00% (1/5) a Chone y Santa Ana; el 18,18 % (2/11) a Jama y el 16,67 %(1/6) correspondiente a Pichincha.

9.3.1 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. canis*) MEDIANTE LA PRUEBA DE INMUNOCROMATOGRAFÍA SEGÚN EL SEXO.

CUADRO # 8. Sexo de los pacientes positivos a Brucelosis (*B. Canis*) mediante la Prueba de Inmunocromatografía.

ORIGEN DE LAS MUESTRAS	NUMERO DE MUESTRAS	Nº CANES POSITIVOS A <i>B. canis</i>	HEMBRAS POSITIVOS A <i>B. canis</i>	MACHOS POSITIVOS A <i>B. canis</i>
Chone	7	1	0	1
Pichincha	5	3	3	0
Santa Ana	5	1	0	1
Jama	11	2	1	1
Jipijapa	10	1	0	1
24 de Mayo	5	0	0	0
El Carmen	7	0	0	0
Junín	6	0	0	0
Olmedo	5	0	0	0
Paján	5	0	0	0
Portoviejo	5	0	0	0
Puerto López	9	0	0	0
Calceta	12	0	0	0
Rocafuerte	5	0	0	0
San Vicente	9	0	0	0
Tosagua	10	0	0	0
Sucre	0	0	0	0
Pedernales	0	0	0	0
Manta	0	0	0	0
Manta	0	0	0	0
Montecristi	0	0	0	0
Flavio Alfaro	0	0	0	0
TOTAL	115	8	4	4
PORCENTAJE	100,00	6,96	50,00%	50,00%

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

X² CALCULADO	X TABULAR		RESULTADOS
0,10	0,05	0,01	NS
	3,84	6,3	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

De un total de 8 pacientes positivos a la prueba de Inmunocromatografía en los animales muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, el 50%(4/8) fueron hembras y el otro 50% (4/8) fueron machos. No existió diferencia significativa⁵ en la presencia de Brucelosis (*B. canis*) en relación al sexo.

9.3.2 PACIENTES POSITIVOS A BRUCELOSIS (*B. canis*) MEDIANTE LA INMUNOCROMATOGRAFÍA SEGÚN LA EDAD

CUADRO # 9. Edad de los pacientes positivos a Brucelosis (*B. canis*) mediante la Prueba de Inmunocromatografía.

CARACTERISTICAS	0-6 MESES	7-11 MESES	1-3 AÑOS	4-5 AÑOS	> 5 AÑOS	TOTAL	%
MUESTRAS	18	5	71	16	5	115	100,00
POSITIVOS	2	0	4	2	0	8	6,96
PORCENTAJES	25 %	0,00%	50 %	25%	0,00%	100,00%	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

X² CALCULADO	X TABULAR		RESULTADOS
2,03	0,05	0,01	NS
	3,84	6,63	

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesistas)

De un total de 8 pacientes positivos a Brucelosis (*B. canis*) mediante la Prueba de Inmunocromatografía el 25% (2/8) correspondieron a edades entre 0 – 6 meses; el 50 % (4/8) entre 1 – 3 años y el 25 % (2/8) entre 4 – 5 años de edad. No existió diferencia significativa en la presencia de Brucelosis (*B. canis*) en relación a las edades.

9.4. HALLAZGOS LABORATORIALES A LA PRUEBA DE ELISA COMPETITIVA.

De un total de 115 canes muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí resultó dos muestra Positiva a *B. abortus*.

9.5. COMPARACION DE LOS HALLAZGOS DE LABORATORIO A LAS DIFERENTES PRUEBAS UTILIZADAS EN EL TRABAJO INVESTIGATIVO.

CUADRO # 10. Comparación de hallazgos de laboratorio a las diferentes pruebas.

CANES POSITIVOS A BRUCELLA SPP							
PROCEDENCIA DE LA MUESTRA	NUMERO DE MUESTRAS	KIT CROMATOGRAFIA (B. canis)		ROSA DE BENGALA (B. abortus y B. melitensis)		ELIZA COMPETITIVA	
24 de Mayo 78	5		0	positivo	1		0
24 de Mayo 80			0	positivo	1		0
24 de Mayo 81			0	positivo	1		0
Chone 83	5		0	positivo	1		0
Chone 86		positivo	1		0		0
El Carmen 103	7		0	positivo	1		0
El Carmen 108			0	positivo	1		0
Junín89	6		0	positivo	1		0
Junín 90			0	positivo	1		0
Olmedo 107	5		0	positivo	1	positivo	1
Paján 73	5		0	positivo	1	sospechoza	1
Paján 76			0	positivo	1		0
Pichincha 69	6	positivo	1	positivo	1		0
Pichincha 70		positivo	1	positivo	1		0
Pichincha 71		positivo	1		0		0
Portoviejo 24	5		0	positivo	1		0
Puerto López 49	9		0	positivo	1		0
Puerto López 53			0	positivo	1		0
Santa Ana 100	5	positivo	1	positivo	1		0
Calceta	12		0		0		0
Jama 3	11	positivo	1				0
Jama 8		positivo	1		0		0
Jipijapa 58	10	positiva	1		0		0
Rocafuerte	5		0		0		0
San Vicente	9		0		0		0
Tosagua	10		0		0		0
Sucre	0		0		0		0
Pedernales	0		0		0		0
Manta	0		0		0		0
Manta	0		0		0		0
Montecristi	0		0		0		0
Flavio Alfaro	0		0		0		0
TOTAL	115		8		17		2
PORCENTAJE	100,00%		6,96%		14,78%		1,74%

Fuente: Pacheco J, Tepú E 2013 (Tesis)

La brucelosis al ser evaluada mediante las diferentes pruebas de laboratorio, en animales de los alrededores de los mataderos municipales de la provincia de Manabí, se llegó a establecer mediante Rosa de Bengala una presencia del 14,78% (IC 95% 8,24-21,31); a Inmunocromatografía 6,96% (IC 95% 2,30 - 11,60); y a Elisa Competitiva 1,74% (IC 95% 0,65- 4,13).

10. CONCLUSIONES

Una vez realizado el trabajo de campo en la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- De un total de 21 mataderos que se encuentran en los 22 cantones de la Provincia de Manabí, Se logró muestrear 76% de ellos (16/21) en donde se encontró presencia de perros callejeros en los alrededores de estos centros de sacrificios.
- De un total de 115 pacientes muestreados en los 16 Mataderos Municipales, el 44,35%(51/115) fueron hembras y el 55,65%(64/115) fueron machos. La edad de los pacientes muestreados fueron el 15,65% (18/115) edades comprendidas entre 0-6 meses; el 4,35 % (5/115) entre 7- 11 meses; el 61,74 %(71/115) entre 1- 3 años; el 13,91%(16/115) entre 4-5 años y el 4,35%(5/115) mayores de 5 años.
- De un total de 115 pacientes muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, el 14,78%(17/115) resultaron positivos Brucelosis (B. abortus) mediante la Prueba de Rosa de Bengala, el 60,00%(3/5) de las muestras tomadas en Matadero de 24 de Mayo resultaron positivas, seguido del cantón Paján con el 40,00%(2/5). Según el sexo los pacientes positivos el 29,41%(5/17) fueron hembras y el 70,59%(12/17) machos. La edad de los pacientes positivos fue del 5,88%(1/17) entre edades de 0-6 meses; 76,47%(13/17) entre 1-3 años y el 17,74 %(3/17) entre 4-5 años. No existe diferencia significativa en la presencia de Brucelosis (B. abortus) en relación a las variables sexo y edad. La brucelosis (B. abortus) a Rosa de Bengala se presentó con un Intervalo de confianza al 95% entre 8,24% a 21,31%.
- De un total de 115 pacientes muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, el 6,90%(8/115) resultaron positivos a Brucelosis (B. canis) mediante la Prueba de Inmunocromatografía, el 30,00 %(3/10) de las muestras tomadas en el Matadero del Cantón Jipijapa resultaron positivas; el 20,00 %(1/5) a los Mataderos de Chone y Santa Ana. El sexo de los

animales positivos 50,00%(4/8) en hembras y el otro 50,00%(4/8) corresponde a machos. La edad de los pacientes fue del 25%(2/8) entre 0-6 meses; 50%(4/8) de 1-3 años y el 25%(2/8) entre 4-5 años. No existe diferencia significativa en la presencia de Brucelosis (*B. canis*) en relación a la variable sexo y edad. la Brucelosis (*B. canis*) se presento mediante Inmunocromatografía con un Intervalo de confianza al 95% entre de 2,31 % a 11,61%.

- De un total de 115 pacientes muestreados en los alrededores de los Mataderos Municipales de la Provincia de Manabí, el 1.74 % resultaron positivos a Elisa Competitiva con un intervalo de confianza al 95% entre 0,65% – 4,13%.

11. RECOMENDACIONES

Al realizar el presente trabajo investigativo se llegó a realizar las siguientes recomendaciones:

- Tomar medidas sanitarias en los perros que se encuentran positivos a Brucelosis en los alrededores de los mataderos municipales de la Provincia de Manabí.
- Que los Municipios provean de cerramiento a los Mataderos Municipales para no permitir el ingreso de los perros a la faena con la finalidad de disminuir el consumo de despojos de animales contaminados.
- Que las autoridades competentes provean equipos como incinerados para la eliminación despojos infecciosos de la faena así como un mejor tratamiento de desechos líquidos.
- A las Autoridades competentes, se lleve a efecto la reubicación de los Mataderos Municipales fuera de la zona urbana, por el peligro existente en la diseminación de enfermedades infecciosas.
- Los pacientes que resultaron positivos a *Brucella* spp sean sometidos a tratamientos (Castraciones, antibioterapia o eutanasia) para evitar la diseminación de la enfermedad a la población Humana.
- Realizar estudios sanguíneos a los dueños de mascotas que resultaron positiva a brucelosis, para determinar el grado de contagio de esta enfermedad de los animales al hombre.