

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DEL PERFIL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CONVOCATORIA 2023

1. **Nombre del proyecto de investigación** *Diagnóstico serológico y molecular de enfermedades bovinas y zoonosis.*
2. **Tipo de proyecto:** *Proyectos de Investigación Fundamental o Básica*
3. **Grupo de investigación:** *Soberanía, Seguridad Alimentaria y Biodiversidad*
4. **Línea de investigación y campos del conocimiento**

Línea 3	<i>Agroecología</i>
Sublínea 3.1	<i>Sanidad animal y vegetal</i>

Línea 6	<i>Cuidado integral individual, familiar y comunitario por ciclo de vidas.</i>
Sublínea 6.2	<i>Determinantes de la salud</i>

5. **Especialidad del campo de estudio**

Campo Amplio	<i>Agricultura</i>
Campo Específico	<i>Veterinaria</i>
Campo Detallado	<i>Veterinaria</i>

6. **Eje y sub-eje de la propuesta**

Eje	<i>Reactivación económica sostenible de la Zona I</i>
Sub-eje	<i>Recuperación económica de las cadenas productivas de las áreas más vulnerables</i>

7. **Director del proyecto, integrantes internos y/o externos (coautores, o colaboradores).**

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

Nombre del integrante	Rol en el proyecto	Institución	Actividades a cargo del investigador	Tiempo en el que participará en el proyecto	Productos que generará el participante	Correo electrónico	Teléfono
MSc. Martin Campos	Autor	UPEC	Diagnóstico de laboratorio	Enero 2023 – Diciembre 2026	Tesis doctoral Artículos científicos	rolando.campos@upec.edu.ec	+593 995879 528
MSc. Marcelo Ibarra	Coautor	UPEC	Diagnóstico de laboratorio	Enero 2023 – Diciembre 2026	Tesis doctoral Artículos científicos	marcelo.ibarra@upec.edu.ec	+593 996633 918
MSc. Andrea Chamorro	Coautor	UPEC	Diagnóstico de laboratorio	Enero 2023 – Diciembre 2026	Artículos científicos	andrea.chamorro@upec.edu.ec	+593 99639 4731

8. Fecha de entrega del perfil 08 de noviembre de 2022

9. Fecha planificada de finalización del proyecto: Diciembre 2026

10. Introducción

El diagnóstico serológico y molecular de las enfermedades infecciosas ha tenido un desarrollo marcado en los últimos años, es así como estas pruebas resultan irremplazables en el campo de la sanidad animal como una herramienta diagnóstica de enfermedades transmitidas por bacterias, virus y parásitos.

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

Prevenir enfermedades mediante un diagnóstico temprano de las mismas es uno de los objetivos fundamentales de la producción pecuaria ya que los microorganismos infecciosos causan desequilibrio en la salud de los animales provocando pérdidas económicas, por muerte de los animales, baja los niveles en su reproducción y producción y gastos económicos en tratamientos médicos.

La provincia del Carchi es una de las provincias del Ecuador con gran potencial productor en el sector ganadero, con un gran número de animales dedicados a la producción láctea y sus derivados, por lo que se debe monitorear de manera constante la presencia de enfermedades infecciosas en los hatos ganaderos, pero para esto es necesario contar con el equipo de diagnóstico de laboratorio para ejecutar los respectivos análisis. Además, se puede decir que para realizar un correcto plan de vacunas es necesario conocer que agentes etiológicos están afectando a los animales de cada zona, así como también la importancia de estos desde el punto de vista de salud pública.

Las enfermedades infecciosas algunas de ellas zoonóticas se encuentran presentes afectando la salud pública y la producción animal alrededor de todo el mundo, son producidas por bacterias, virus y parásitos, estos microorganismos tienen la capacidad de transmitirse fácilmente vía directa o indirecta, lo que hace que su propagación sea rápida y muchas veces difícil de controlar, por lo que se hace muy necesario recurrir a herramientas de laboratorio que nos brinden un alto grado de sensibilidad y especificidad en lo que al diagnóstico se refiere, la primera fase del proyecto tuvo como meta el equipamiento y validación de pruebas diagnósticas serológicas y moleculares para algunas enfermedades infecciosas en bovinos, por lo que esta segunda fase se enfoca en profundizar el desarrollo de dichas técnicas, incluyendo otras variables como son diferentes tipos de muestras o tejidos a analizar, así como también protocolos desarrollados en el laboratorio para reducir los costos de los “kits” comerciales que actualmente se están usando.

11. El problema

El Ecuador es un país endémico para muchas enfermedades que atacan a los bovinos, afectando de forma significativa la economía de los productores agropecuarios. La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de distribución mundial que tiene efectos negativos en la producción y reproducción de los animales, además de las repercusiones en salud pública.

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

La brucelosis bovina en el Ecuador es desestimada ya que los datos de prevalencias son aislados además que la única base nacional fue realizada en el año 1979 por el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Animal, en donde el Ecuador debido a la brucelosis bovina fue clasificado en zonas epidemiológicas en función a la prevalencia de la enfermedad así como también a la región, calificándoles en zonas de alta prevalencia a la sierra norte y costa, así como también de baja prevalencia a la sierra sur y Amazonía, y zona con prevalencia cero a las Islas Galápagos.

La provincia del Carchi, zona de estudio de la presente investigación, está incluida en la zona de alta prevalencia de brucelosis bovina con valores que oscilan entre 1,97% y 10,62% (MAG-SESA, 1979), información que según estudios actualizados se ha mantenido con valores variantes según la zona de estudio como por ejemplo en el cantón Espejo – Carchi se encontró una seroprevalencia de 2,67% (Acosta, 2017); en el cantón Montufar – Carchi se encontró una prevalencia de 7,10% (Gonzales, 2018).

Dado que la provincia del Carchi - Ecuador es una provincia con una importante producción de leche bovina a nivel del Ecuador, y sumado los antecedentes antes expuestos se ve necesario realizar estudios de actualización de dicha enfermedad en la zona, así como también la incorporación a las pruebas de diagnóstico rutinarias (aglutinación y enzimáticas), pruebas moleculares que permiten identificar y caracterizar el agente causal circundante de la brucelosis en la provincia del Carchi.

La proposición planteada obedece a un enunciado sintético que va a ser probado, ya que no necesariamente los animales con serología positiva a brucelosis bovina van a permitir la identificación y caracterización de Brucella spp. toda vez que este medio de diagnóstico depende también del tipo de muestra a investigar. Esta proposición hace referencia a un conocimiento a posteriori, ya que para llegar al fin de la investigación si tiene conocimiento de la circulación de anticuerpos contra brucelosis bovina en la provincia del Carchi, lo que supone que los animales en algún momento de su vida estuvieron en contacto con el agente causal de la brucelosis, y que para llegar a su identificación y caracterización se requiere una serie de procesos metodológicos, además que el hecho de que el animal sea seropositivo a brucelosis no asegura que se pueda identificar el agente causal mediante técnicas moleculares. Además, a ello, la técnica a utilizar hace referencia a procesos cuantitativos (PCR tiempo real o qPCR) lo que permite cuantificar la cantidad de ácidos nucleicos en función a los tejidos a estudiar.

12. Objetivos

- Objetivo General

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

Diagnosticar enfermedades bovinas y zoonosis en la provincia del Carchi, mediante técnicas serológicas y moleculares.

- *Objetivos Específicos*

Determinar la seroprevalencia de enfermedades bovinas y zoonosis en la provincia del Carchi

Identificar los factores de riesgo asociados a enfermedades bovinas y zoonosis en la provincia del Carchi

Determinar los tipos de muestras (tejidos/fluidos) idóneas para el diagnóstico molecular de enfermedades bovinas y zoonosis..

Identificar y caracterizar mediante técnicas moleculares enfermedades emergentes y re-emergentes en bovinos zoonosis.

13. Justificación y alcance territorial

El desarrollo y uso de equipos de diagnóstico serológico y molecular para el diagnóstico y tipificación de microorganismos causantes de enfermedades infecciosas y zoonóticas permite comprender los potenciales usos de la biología molecular en el campo de la pecuaria, ya que la presencia de enfermedades parasitarias o infecciosas en varias ocasiones han causado graves problemas en la salud animal incluso humana. Estos hechos han dado como resultado que las técnicas diagnósticas como biología molecular y serología se conviertan en instrumentos fundamentales para el diagnóstico de enfermedades infecciosas y zoonóticas, por otro lado, en la parte de producción animal es muy importante tener a la mano un método que permita un diagnóstico preciso de enfermedades que afecten o puedan afectar su salud tanto productiva como reproductiva, causando problemas económicos.

Las nuevas técnicas diagnósticas que se basan en el uso de la biología molecular y serología enzimática permiten identificar y diagnosticar de manera precisa la presencia de agentes infecciosos tales como virus, bacterias, parásitos, además permite entender la epidemiología de una enfermedad y de esta manera contribuir como institución al desarrollo de avances en investigación para el progreso de la producción pecuaria de la región y del país.

La UPEC, y la carrera de Agropecuaria bajo este contexto tienen la oportunidad de aportar a través de la investigación al desarrollo de las actividades pecuarias por medio de la implementación de un laboratorio de diagnóstico de enfermedades infecciosas y zoonóticas, de esta manera se daría a conocer no solo al país sino al mundo por medio de publicaciones científicas a cerca de la presencia de agentes etiológicos que estarían causando determinadas enfermedades en esta región del Ecuador, este hecho resulta de suma importancia para investigadores de países vecinos quienes quizás no conocen

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

sobre la presencia real y evidenciada científicamente de determinados microorganismos patógenos responsables de algunas enfermedades infecciosas y zoonóticas, y así de esta manera poderlas relacionar con patologías presentes en sus países, incluso hacer investigaciones similares para poder confirmar la presencia de microorganismos iguales que estén afectando la salud de sus animales, además, el uso de estas técnicas diagnósticas aportan información de acuerdo a requerimientos productivos y de sanidad de acuerdo a cada región.

De esta manera evidencia la necesidad de la creación de un laboratorio de enfermedades infecciosas y zoonóticas, ya que se apoyaría directamente a los productores de la provincia del Carchi, se informaría por medio de investigaciones y publicaciones científicas los resultados alcanzados no solo a nivel nacional sino también internacional, además está enmarcado dentro de las líneas de investigación que es producción agropecuaria sustentable, ya que al ayudar a diagnosticar enfermedades infecciosas y zoonóticas se pueden prevenir estas y da lugar a que los productores obtengan productos y derivados animales inocuos para el consumo de la sociedad.

14. Marco Teórico

Brucelosis

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa declarada por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Mundial de la Sanidad Animal como la zoonosis más persistente a nivel mundial (OIE, 2004).

*La brucelosis es una enfermedad causada por bacterias pertenecientes al género *Brucella*, que es una bacteria intracelular facultativa, especie específica, pero que en la actualidad debido al tipo de manejo de los sistemas productivos ha cambiado de hospedador en especial en explotaciones mixtas (OIE, 2004).*

*Dentro de las especies reconocidas actualmente se encuentra *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. neotomae*, (CPSH, 2018) que son distribución mundial, de las cuales *B. abortus* en bovinos, *B. melitensis* en cabras y ovejas, y *B. suis* en suinos son patógenos que se encuentran incluidos en la lista de enfermedades de notificación obligatoria de la World Organisation for Animal Health (OIE, 2004).*

Esta bacteria causa importantes pérdidas productivas y reproductivas en los sistemas pecuarios, en donde presenta particular importancia en lecherías bovinas, ya que en las hembras ocasiona abortos acompañados con retención de placenta, nacimiento de terneros débiles, y baja en la producción de leche (England, Kelly, Jones, McMillan, & Wooldridge, 2004); (Yamamoto, Nishiguchi, Tsutsui, & Kobayashi, 2008); mientras que en machos ocasiona epididimitis y orquitis (Spickler, 2009)

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

Distribución

La brucelosis es una enfermedad de distribución mundial, en donde algunas especies han sido controladas y erradicadas en muchos países, pero que en otros permanece endémica, existiendo variaciones de prevalencia e incidencia entre un país y otro e inclusive entre zonas de un mismo país (Memish & Balkhy, 2004).

Esta enfermedad ha sido erradicada en Australia, Canadá, Dinamarca, Finlandia, Nueva Zelanda, Países Bajos, Noruega, Suecia y Reino Unido. Los países mediterráneos de Europa, el norte y el este de África, los países del Cercano Oriente, India, Asia Central, México, América Central y América del Sur son endémicos para la brucelosis bovina (Seleem, Boyle, & Sriranganathan, 2010).

*Para el caso de América Central y el Caribe, las tasas de infección suelen oscilar entre el 10% y el 25%, donde El Salvador presenta la menor incidencia (1%) y Guatemala y Costa Rica parecen ser los más altos. En Sudamérica, la brucelosis es la enfermedad más grave en el ganado vacuno, con tasas de prevalencia que oscilan entre el 0,1% y el 20,3%, siendo *B. abortus* el agente más común en Argentina y Perú, *B. melitensis* y *B. suis* también están presentes en tasas elevadas (Acha & Szyfres, 2001).*

El Ecuador es un considerado un país endémico para brucelosis bovina debido a un estudio realizado en el año 1979 por el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería en donde se identificó en todo el territorio nacional a excepción de las Islas Galápagos prevalencias del 1.3% al 10.6%, lo que más a futuro permitió dividir al país en zonas epidemiológicas de alta prevalencia, baja prevalencia y libre de la enfermedad (MAG-SESA, 1999).

La provincia del Carchi se encuentra ubicada en la zona norte del Ecuador en el límite internacional con Colombia; que desde el punto de vista de brucelosis bovina es considerada como una zona de alta prevalencia para esta enfermedad, en donde se han determinado prevalencias de 2,67% (Acosta, 2017), 7,10% (Gonzales, 2018).

Brucelosis bovina

*La brucelosis bovina es causada por *B. abortus* que es un cocobacilo intracelular facultativo de distribución mundial, que se encuentra altamente diseminando en países de África, América Latina y Asia, siendo la principal causa de brucelosis en bovinos (Olsen & Tatum, 2010); (Wang, Wang, Sun, Bateer, & Zhao, 2020).*

Las principales vías de contagio del ganado bovino es la ingestión de leche, alimentos, agua y forraje de pastoreo contaminados; también se contagia por el contacto directo con animales infectados, secreciones uterinas, fetos abortados y terneros recién nacidos de vacas infectadas (Olsen & Tatum, 2010). La transmisión al ternero recién nacido no se da de forma intrauterina o

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

transplacentaria sino más bien está asociada al consumo del calostro o leche proveniente de vacas positivas (Díaz, 2013).

Brucella spp. una vez dentro del hospedero se internaliza por medio de células fagocíticas y se trasladada a los ganglios linfáticos más cercanos, que posteriormente diseminan la bacteria a los diferentes órganos del sistema reticuloendotelial, incluidos los pulmones, el bazo, el hígado y la médula ósea (González-Espinoza, Arce-Gorvel, & Mémet, 2021).

En animales preñados, Brucella spp. generan un fuerte tropismo por los ofoblastos placentarios, líquidos fetales y glándulas mamarias, replicándose en gran cantidad y ocasionando lecciones a nivel de útero provocando aborto en el último tercio de gestión de los bovinos con retención de placenta (Xavier, Paixão, Poester, & Lage, 2009). En los bovinos el aborto se presenta por una sola vez y en las subsecuentes preñeces el parto es normal, aunque puede presentarse problemas al parto acompañado de síntomas de enfermedad, retención de placenta y metritis (CPSH, 2018).

Brucella spp. puede infectar la glándula mamaria y los nódulos linfáticos regionales ocasionando la eliminación del agente en la leche, lo cual es considerado como un factor de riesgo importante en las lecherías bovinas, además que produce una reducción en la producción de leche de hasta el 25%, como lo menciona Acha & Szyfres, (2001).

Los problemas productivos y reproductivos de la brucelosis bovina también se traducen en pérdidas económicas importantes a nivel mundial como lo mencionado por Acha & Szyfres, (2001), en donde estimaron pérdidas debido a la brucelosis bovina en Latin América de hasta 600 millones de dólares al año, así como también Angara, Ismail, Ibrahim, & Osman, (2016) en Khartoum, Sudan con 7,3 millones de dólares, Santos, Martins, Borge, & Paixão, (2013) en Brasil con 448 millones de dólares, y Arenas & Moreno, (2016) en Colombia con 2176 millones de dólares.

Brucelosis bovina en el Ecuador

A nivel de Ecuador la única especie reportada causante de brucelosis es B. abortus identificada específicamente de ganado bovino a través de pruebas serológicas y moleculares (Rodríguez, y otros, 2015).

A pesar de que en Ecuador existe un plan de control y erradicación de la brucelosis bovina, que basa sus puntos de control en: la capacitación, diagnóstico y sacrificio de animales positivos, vacunación masiva y vigilancia epidemiológica, (AGROCALIDAD, 2009) este plan no ha tenido el éxito esperado.

Para el caso del diagnóstico el plan de control y erradicación de brucelosis bovina utiliza el esquema de diagnóstico propuesto por la OIE que es el uso de una

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

prueba serológica tamiz (rosa de bengala) y una prueba confirmatoria (ELISA competitivo) (AGROCALIDAD, 2009)

En lo que respecta al sacrificio de animales positivos, este se ha convertido en el punto crítico del control, debido a que los ganaderos al momento de tener animales positivos estos no reciben una compensación o precio adecuado por el animal, lo que ocasiona que el sacrificio muchas no se realice, inclusive diseminando en mayor grado la enfermedad.

La vacunación también se ha convertido en punto crítico del control, ya que se utilizan los dos tipos de vacuna S19 y RB51, y además no se manejan registros de vacunación, lo que dificulta el proceso de diagnóstico serológico.

15. Marco Metodológico

En el presente estudio se pretende utilizar dos tipos de técnicas según las hipótesis planteadas

Técnica observacional – enfocada al diagnóstico serológico y molecular de brucelosis

Técnica experimental – Comparara los tipos de muestras para el diagnóstico molecular de brucelosis

*Además, la presente investigación se desarrollará en el ámbito de investigación interdisciplinar, toda vez que se estudiará desde el área de sanidad animal (diagnóstico serológico) y desde el área de biología molecular), para aportar aun mismo objetivo que es la identificación y caracterización de *Brucella spp*, cada una desde sus diferentes categorías.*

La aplicación de las técnicas antes mencionadas se aplicará en función a los objetivos planteados según el siguiente detalle:

- *Identificación de animales positivos a brucelosis mediante las pruebas rosa bengala como prueba tamiz y cELISA como prueba confirmatoria.*

El proyecto se desarrollará en la provincia del Carchi, considerada una zona importante de ganadería lechera en el Ecuador, para la identificación de los animales seropositivos se realizará un muestreo sanguíneo mediante venopunción de la vena coccígea, en tubos para vacutainer con gel separador a un total de 10000 animales. Las muestras serán identificadas con el número de arete del animal con el nombre del propietario y ubicación de la finca. Las muestras serán transportadas al laboratorio de diagnóstico veterinario de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi en donde mediante centrifugación (4000 rpm por 5 minutos) se separará el suero del plasma a través del gel separador, posterior a ello el suero será analizado mediante la prueba rosa de

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

bengala, utilizando el reactivo rosa de bengala de la casa comercial livex, siguiendo el protocolo descrito por OIE; las muestras positivas a rosa de bengala serán confirmadas mediante la prueba cELISA utilizando un kit comercial de la casa ELLIE.

- *Evaluar qué tipo de muestras (útero o ubre) son adecuadas para el diagnóstico molecular de brucelosis.*

De los animales seropositivos confirmados mediante cELISA, una vez acordado con el propietario y planificado el sacrificio con los entes pertinentes, se trasladará el animal al matadero para ser sacrificado utilizando los protocolos de sacrificio sanitario propuesto por AGROCALIDAD – Ecuador, y se tomará muestras de útero y ubre para ser transportados al laboratorio en recipientes estériles e individuales con su respectiva identificación. Para el proceso de extracción de ácidos nucleicos se utilizará un kit comercial (FASTDNA SPIN KIT FOR PLANTS AND ANIMAL TISSUES de la casa comercial MP Biomedicals) siguiendo el protocolo del fabricante, y mediante un protocolo de extracción “in house” fenol-cloroformo. Luego de obtener el ADN este se cuantificará en un equipo cuantificador de ácidos nucleicos previo el proceso de PCR.

- *Identificar y caracterizar Brucella spp. de bovinos con serología positiva mediante la prueba PCR.*

Una vez extraído el ácido nucleico de cada tipo de muestra se realizará el análisis molecular mediante PCR multiplex a través del gen IS711 de Brucella utilizando el protocolo “AMOS” que permite identificar cepas de Brucella abortus (A), Brucella melitensis (M), Brucella ovis (O), y Brucella suis (S), y de las muestras con resultado positivo a la prueba antes realizada se realizará el análisis molecular mediante PCR multiplex utilizando el protocolo “AMOS modificado” que permite discriminar la cepa vacunal de brucelosis bovina S19. Los resultados del PCR se podrán evidenciar mediante la técnica de electroforesis y de forma cuantitativa mediante qPCR.

16. Las variables

VARIABLE DEPENDIENTE
<i>Animales seropositivos</i>
<i>Diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas</i>
<i>Cuantificación de ácidos nucleicos según tejido</i>
VARIABLE INDEPENDIENTE
<i>Factores de riesgo</i>
<i>Tipos de muestras y tejidos</i>

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

17. Operacionalización de las variables de la investigación

Matriz de operacionalización de las variables

Variable	Concepto	Dimensiones	Indicadores
<i>Animales seropositivos</i>	<i>Individuos con resultado positivo a pruebas serológicas</i>	<i>Seroprevalencia</i>	<i>Positivo/Negativo</i> <i>Prevalencia= # animales seropositivos / total de la población</i>
<i>Factores de riesgo</i>	<i>Factores de índole externo que puede propender a la aparición de una enfermedad o síndrome</i>	<i>Individuo Sistema de crianza Instalaciones Nutrición y Alimentación Sanidad Reproducción</i>	<i>Asociación estadística entre la prevalencia de la enfermedad y los factores de riesgo</i>
<i>Diagnóstico molecular</i>	<i>Detectar el genoma de los agentes patógenos a través de las secuencias de sus ácidos nucleicos</i>	<i>Identificación de ácidos nucleicos del agente</i>	<i>Presencia/Ausencia de ácidos nucleicos comparados con un marcador control de pares de bases nitrogenadas</i>
<i>Cuantificación ácidos nucleicos</i>	<i>Cuantificación de forma absoluta del producto de la amplificación de ácidos nucleicos</i>	<i>Multiplicación de ácidos nucleicos por ciclo de reacción</i>	<i>Ácidos nucleicos por ciclo en PCR tiempo real a través de fluoresceína</i>
<i>Tipos de tejidos o muestras</i>	<i>Estructuras celulares de origen animal y vegetal</i>	<i>Tipo de tejido u origen</i>	<i>Cuantificación de ácidos nucleicos mediante espectrometría</i> <i>Valores > 10 ng</i>

18. Componente estadístico de la investigación

El análisis estadístico de las variables se pretende realizar a través de estadística descriptiva, en virtud que los datos son no paramétricos (positivo – negativo), y regresiones logísticas multivariadas para lo cual se utilizar el programa estadístico R. Además, para el análisis de los factores de riesgo se utilizará pruebas de chi-cuadrado, V de Cramer, y tablas de contingencia para analizas Odds ratio.

19. Impactos esperados

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

Matriz de impactos	
Social	<i>Tener un laboratorio para realizar el diagnóstico de enfermedades bovinas y zoonosis en la provincia del Carchi. Técnicas "in house" para reducir costo de servicio al sector productivo</i>
Científico	<i>Producción de artículos científicos en revistas de alto impacto</i>
Económico	<i>Servicio de diagnóstico veterinario en la provincia del Carchi</i>
Político	
Actividad I+D+i	<i>Validación de técnicas "in house" de extracción de ácidos nucleicos y para diagnóstico molecular de enfermedades</i>
Otro (especifique)	

20. Productos de investigación

Como productos de investigación se pretende publicar al menos 2 artículos científicos y la participación en al menos dos ponencias internacionales.

18. Cronograma

ACTIVIDADES	INICIO	FIN
Muestreo campo	Marzo 2023	Marzo 2024
Diagnóstico serológico	Abril 2023	Marzo 2024
Muestreo en centros de faenamiento	Abril 2023	Marzo 2024
Extracción de ácidos nucleicos desde tejido	Abril 2024	Abril 2025
PCR punto final y electroforesis	Abril 2024	Abril 2025
PCR tiempo real	Abril 2024	Abril 2025
Cierre proyecto de investigación	Abril 2025	Agosto 2026

19. Recursos y presupuesto

Presupuesto para el desarrollo de la investigación

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

ACTIVIDADES (según el cronograma)	RECURSOS	PARTIDA	CPC	CANTIDAD	PRESUPUESTO (\$)		Fecha de ejecución
					PRECIO UNITARIO (\$)	TOTAL	
Muestreo campo	Tubos para toma de	530829 insumos,	35290.10.7 Material de	150	20,00	3000,00	Abril 2023
Muestreo campo	Agujas para vacutainer para tubos 21G (caja)	530829 insumos, bienes, materiales y	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	150	19,00	2850,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Micropipeta múltiple de 0,5 a 10 ul	840104 Maquinarias y Equipos (Bienes de	48265.02.2 Equipo para análisis físicoquímico	1	250,00	250,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Micropipeta múltiple 20 a 200 ul	840104 Maquinarias y Equipos (Bienes de	48265.02.2 Equipo para análisis físicoquímico	2	650,00	650,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Centrifuga de 200 a 15000 rpm de 48 puestos para tubos de hasta 10 ml	840104 Maquinarias y Equipos (Bienes de Larga Duración)	48265.02.2 Equipo para análisis físicoquímico, microbiológico y de laboratorio	1	6000,00	6000,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Kit ELISA indirecto varias enfermedades	530819 Adquisición de Accesorios	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	10	800,00	8000,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Kit ELISA COMPETITIVO brucelosis bovina 5 placas	530819 Adquisición de Accesorios	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	5	1800,00	9000,00	Abril 2023
Diagnóstico serológico	Kit Fluorescencia polariza en leche brucelosis bovina 500 reacciones	530819 Adquisición de Accesorios	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	2	1800,00	3600,00	Julio 2023
Diagnóstico serológico	Rosa de bengala para brucelosis bovina (100ml)	530819 Adquisición de Accesorios	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	5	550,00	2750,00	Julio 2023
Diagnóstico molecular	Puntas para micropipeta 20 - 200 ul (amarillos)	530829 insumos, bienes, materiales y suministros	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	10	60,00	600,00	Julio 2023
Diagnóstico molecular	Puntas micropipeta 5 - 20 ul (transparente)	530829 insumos, bienes, materiales y	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	5	60,00	300,00	Julio 2023
Diagnóstico molecular	Reactivos extracción ácidos nucleicos	530819 Adquisición de Accesorios e Insumos Químicos y	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	100	40,00	4000,00	Febrero 2024
Diagnóstico molecular	Reactivos PCR punto final y tiempo real	530819 Adquisición de Accesorios	35290.10.7 Material de laboratorio clínico	100	50,00	5000,00	Febrero 2024

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

TOTAL	46000,00	
-------	----------	--

21. Referencias bibliográficas

- Acha, P., & Szyfres, B. (2001). *Brucellosis. In: Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. Washington,: Pan American Health Organization,.
- Acosta, A. (2017). “Prevalencia de Brucelosis (*Brucella Abortus*) En Vacas En Producción Lechera En El Cantón Espejo.”. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- AGROCALIDAD, A. (2009). *Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina*. Ecuador.
- Angara, T., Ismail, A., Ibrahim, A., & Osman, S. (2016). “Assessment of the Economic Losses Due To Bovine Brucellosis in Khartoum State, Sudan.”. International Journal of Technical Research and Applications.
- Arenas, N., & Moreno, V. (2016). “Estudio Económico de La Infección Por *Brucella Abortus* En Ganado Bovino En La Región Del Sumapaz, Cundinamarca.”. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia 63(3).
- CPSH. (2018). *The Center for Food Security & Public Health. Brucellosis*.
- Díaz, A. (2013). *Epidemiología de la brucelosis causada por Brucella melitensis, Brucella suis y Brucella abortus en animales domésticos*. Rev. Sci. Tech. Off Int.
- England, T., Kelly, L., Jones, R., McMillan, A., & Wooldridge, M. (2004). *A Simulation Model of Brucellosis Spread in British Cattle under Several Testing Regimes.*. Preventive Veterinary Medicine.
- Gonzales, P. (2018). “Factores de Riesgo Asociados a La Brucelosis Bovina (*Brucella Abortus*) En Vacas En Producción Lechera En El Cantón Montúfar.”. Universidad Politecnica Estatal del Carchi.
- González-Espinoza, G., Arce-Gorvel, V., & Mémet, S. (2021). *Brucella: Reservoirs and Niches in Animals and Humans. Pathogens*. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10020186>
- Memish, Z. A., & Balkhy, H. H. (2004). Brucellosis and International Travel. *Journal of Travel Medicine* 11:., 49–55.

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

- OIE. (Enero de 2004). *ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL*. Obtenido de ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL: <https://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf>
- Olsen, S., & Tatum, F. (2010). *Bovine Brucellosis. Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.006>
- Rodríguez, R., Contreras, J., Benitez, W., Guerrero, K., Salcan, H., Minda, E., & Ron, G. (2015). *Circulating strains of Brucella abortus in cattle in Santo Domingo de los Tsáchilas Province – Ecuador*. Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador: *Frontiers in Public Health*.
- Santos, R., Martins, T., Borge, Á., & Paixão, T. (2013). *“Economic Losses Due to Bovine Brucellosis in Brazil.”*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*.
- Seleem, M., Boyle, S., & Sriranganathan, N. (2010). *Brucellosis: A re-emerging zoonosis*. In *Veterinary Microbiology* (Vol. 140). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.021>
- Spickler, A. (2009). *Brucellosis*. The Health Center for Food Security and Public Health. Obtenido de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis.pdf>.
- Wang, S., Wang, W., Sun, K., Bateer, H., & Zhao, X. (2020). *Comparative genomic analysis between newly sequenced Brucella abortus vaccine strain A19 and another Brucella abortus vaccine S19. Genomics*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.201>
- Xavier, M., Paixão, T., Poester, F., & Lage, A. (2009). *Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with Brucella abortus. J. comp. Pathol.*
- Yamamoto, T., Nishiguchi, A., Tsutsui, T., & Kobayashi, S. (2008). *“Evaluation of Surveillance Strategies for Bovine Brucellosis in Japan Using a Simulation Model.”*. *Preventive Veterinary Medicine*.

21. Certificaciones

- a) Oficio de Aprobación de los Consejos de Facultad involucrados en las propuestas
- b) Certificación de aprobación por parte del Coordinador del Grupo de Investigación proponente
- c) Oficio de Compromiso del Director y los integrantes.
- d) En el caso de que el proyecto cuente con investigadores externos deberá

	UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI	SGC-UPEC
	TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA - CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	

Código UPEC-P5-S2.1-FT01; Versión: 01; 08 de Junio del 2018

anexarse la copia de sus currículos, así como las cartas de intención de las instituciones provenientes debidamente legalizadas, para posteriormente oficializar su participación a través de un convenio.

- e) Certificación firmada por el Comité de Bioética en Investigación del área de la salud de la UPEC, para el caso de que el proyecto implique alguna intervención sobre seres humanos
- f) Certificación firmada por el Comité de ética de investigación en especies animales y vegetales de la UPEC, para el caso de que el proyecto implique alguna intervención sobre animales o plantas

Atentamente;



Firmado electrónicamente por:
ROLANDO MARTIN
CAMPOS VALLEJO

Msc. Martin Campos
DIRECTOR PROYECTO