

UCUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Estudio serológico de Brucelosis en perros con acceso al relleno sanitario del cantón Cuenca

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista

Autora:

Priscilla Natalie Cajamarca Cango

CI: 1104551518

Correo electrónico: prissycaja2104@gmail.com

Director:

Dr. Omar Santiago Andrade Guzmán

CI: 0102805496

Cuenca, Ecuador

03-octubre-2022

RESUMEN

Los perros abandonados son una potencial amenaza para fauna silvestre, doméstica y el hombre, actúan como vectores para la diseminación de bacterias que representan un riesgo a la salud pública en general. En este trabajo se propuso determinar la prevalencia de *Brucella Canis* y *Brucella abortus* en perros mediante pruebas serológicas. El estudio se realizó en 50 perros con acceso al relleno sanitario de Pichacay del cantón Cuenca. Los perros fueron capturados en trampas de jaulas y posteriormente sedados; se extrajo 5ml de sangre de la vena cefálica en tubos sin anticoagulante, fueron transportados al laboratorio donde se centrifugaron para obtener suero sanguíneo, se almacenaron en tubos eppendorf a – 20°C hasta su análisis. Para la identificación de anticuerpos a *B. abortus* se utilizó la prueba Rosa de Bengala (IDEXX) y como prueba confirmatoria el ensayo de ELISA – indirecto (IDEXX), la identificación de anticuerpos para *B. canis* se realizó con la prueba ELISA en base sólida (ImmunoComb Canine Brucella Antibody Test Kit). De las muestras analizadas un perro resultó seropositivo al test Rosa de Bengala y al realizar el ELISA indirecto como prueba confirmatoria para la presencia de anticuerpos para *B. abortus* todas resultaron negativas. Al realizar la prueba ImmunoComb se obtuvo 19 muestras seropositivas a *B. canis* calculándose una prevalencia del 38%, según el sexo se obtuvo una prevalencia de 39.3% en hembras. Concluyendo que existe presencia y además alta prevalencia de *B. canis* en el sector, que afecta con mayor proporción a las hembras caninas.

Palabras clave: Perros. *Brucella canis*. *Brucella abortus*. Prevalencia. ELISA.

ABSTRACT

Abandoned canines are a potential threat to wildlife, domestic animals, and humans because they act as vectors for the spread of bacteria that represent a risk to public health in general. The purpose of this work is to determine the prevalence of *Brucella canis* and *Brucella abortus* in dogs by the application of serological tests. The study was conducted with 50 dogs that had access to the Pichacay landfill in Cuenca city. The dogs were captured in cage traps and then sedated, 5ml of blood was extracted from the cephalic vein in tubes without anticoagulant which was transported to the laboratory where they were centrifuged to obtain blood serum, they were stored in Eppendorf tubes at 20°C until their analysis. For the identification of *B. abortus* antibodies, the Rose Bengal test (IDEXX) was used and the indirect ELISA assay (IDEXX) was used as a confirmatory test. The recognition of antibodies against *B. canis* was performed with the solid-based ELISA test (ImmunoComb Canine Brucella Antibody Test Kit).

Among the samples analyzed, one canine was seropositive to the Rose Bengal test and when performing the indirect ELISA as a confirmatory test for the presence of antibodies to *B. abortus*, all of them were negative. When performing the ImmunoComb test, 19 seropositive samples for *B. canis* were obtained, determining a prevalence of 38%, according to sex, a prevalence of 39.3% was obtained in females. In conclusion, there is a presence and also a high prevalence of *B. canis* in the sector which affects the female canines in a greater proportion.

Keywords: Dogs. *Brucella canis*. *Brucella abortus*. Prevalence. ELISA

Índice de contenido

1	INTRODUCCIÓN.....	12
2	Objetivos	15
2.1	Objetivo general:	15
2.2	Objetivos específicos:	15
3	REVISIÓN DE LITERATURA	16
3.1	El perro	16
3.1.1	Antecedentes.....	16
3.1.2	El perro callejero.....	16
3.1.3	El perro semiferal	17
3.1.4	El perro feral	17
3.2	Captura de mamíferos medianos	18
3.3	Zoonosis	19
3.4	Brucelosis	19
3.4.1	Brucelosis en el Ecuador	20
3.4.2	Etiología	20
3.4.3	Taxonomía	21
3.4.4	Especies.....	21
3.4.5	Constituyentes bacterianos.....	22

UCUENCA

3.4.6	Transmisión	25
3.4.7	Patogenia	26
3.4.8	Respuesta inmunitaria	28
3.4.9	Signos y síntomas	29
3.4.10	Métodos diagnósticos	32
4	MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
4.1	Materiales	36
4.1.1	Materiales biológicos	36
4.1.2	Materiales físicos	36
4.1.3	Materiales químicos.....	37
4.1.4	Materiales de oficina	37
4.2	Métodos	37
4.2.1	Localización geográfica del estudio	37
4.2.2	Población: Muestra	38
4.2.3	Criterios	38
4.2.4	Selección de los animales	39
4.2.5	Recolección de sangre	39
4.2.6	Determinación de la presencia de anticuerpos a <i>Brucella canis</i>	40
4.2.7	Determinación de la presencia de anticuerpos a <i>Brucella abortus</i>	41

UCUENCA

4.3	Análisis estadístico.....	43
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
5.1	Prevalencia de <i>Brucella canis</i>	44
5.1.1	Prevalencia de <i>B. canis</i> según el sexo	45
5.2	Prevalencia de <i>Brucella abortus</i>	47
6	CONCLUSIONES.....	49
7	RECOMENDACIONES.....	50
8	BIBLIOGRAFÍA.....	51
9	ANEXOS	57

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Brucella</i>	21
Tabla 2. Huéspedes, especies de <i>Brucella</i> , vía de transmisión y patogenia.....	21
Tabla 3. Supervivencia de <i>Brucella spp</i>	26
Tabla 4. Interpretación de resultados	35
Tabla 5. Total, de muestras analizadas y la proporción entre hembras y machos.	44
Tabla 6. Prevalencia total de perros expuestos a <i>Brucella canis</i>	44
Tabla 7. Resultados del test de <i>Brucella canis</i> por sexo	46
Tabla 8. Niveles de títulos de anticuerpos para <i>Brucella canis</i> y según el sexo. ...	47

Índice de figuras

Figura 1. Representación esquemática de la envoltura celular de <i>Brucella</i>	22
Figura 2. Representación de la fagocitosis de <i>Brucella abortus</i> por un polimorfonuclear	27
Figura 3. Comb Scale	35
Figura 4. Ubicación satelital del Relleno Sanitario Pichacay	37
Figura 5. Suero positivo a Rosa de Bengala	47

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Priscilla Natalie Cajamarca Cango en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "*Estudio serológico de Brucelosis en perros con acceso al relleno sanitario del cantón Cuenca*", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 03 de octubre de 2022



Priscilla Natalie Cajamarca Cango

1104551518

Cláusula de Propiedad Intelectual

Priscilla Natalie Cajamarca Cango autora del trabajo de titulación "**Estudio serológico de Brucelosis en perros con acceso al relleno sanitario del cantón Cuenca**", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 03 de octubre de 2022



Priscilla Natalie Cajamarca Cango

C.I: 1104551518

Activa
Ve a Co

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme vida y fuerza para terminar con éxito mi carrera; quiero agradecer a mi padre y mi madre por su amor y paciencia infinita, a mi hermana por apoyarme y brindarme tiempo para poder hacer realidad este proyecto. A mi hija a Alicia que es la luz de mi vida y a mi esposo que siempre hace ligera y bonita la vida.

También quiero agradecer a todos mis maestros de la Universidad de Cuenca que han aportado para mi formación académica y personal; especialmente al Dr. Omar Andrade director de tesis, a los miembros que conforman el DAT, al Dr. Ángel Carangui y Dra. Andrea Vintimilla. Por último, al Dr. Cornelio Rosales que con sus sabios consejos siempre me motivo para poder alcanzar esta meta.

Priscilla Natalie Cajamarca Cango

1 INTRODUCCIÓN

El perro es el animal de compañía que en la actualidad juega un rol importante dentro del núcleo familiar, en ocasiones las personas no ofrecen los cuidados necesarios para que estos animales tengan una vida plena, en casos de abandono y maltrato los perros huyen y se ven obligados a buscar alternativas de alimento y refugio, es así como buscan zonas poco pobladas para habitar y en su afán de sobrevivir van retomando comportamientos silvestres (Marín, 2019).

Para el año 2013, la población canina en el país bordea 1,765.744 individuos, de los cuales 500.000 viven en abandono; siendo así que en el cantón Cuenca según el Consejo Cantonal de Salud en el año 2016 se registraron 15.000 perros en situación de calle (Berrú, 2019). Información más reciente extraída del sitio Web Entorno Inteligente, el 13 de septiembre del 2019 informa que en Cuenca deambulan 20.000 perros y gatos (Porras, 2019).

Los animales abandonados se convierten en un potencial peligro para los ecosistemas terrestres y acuáticos, así como son la causa de desequilibrio en la fauna silvestre (Weber, 2010), además actúan como vectores de enfermedades que representa una amenaza para animales domésticos y el hombre (CAR, 2016).

La transmisión de enfermedades entre el hombre y los animales se conoce como zoonosis, puede darse de forma directa o por medio de vectores (Adell, 2017). El 60% de las enfermedades que el hombre contrae son transmitidas por animales vertebrados; además el 75% de las enfermedades emergentes son de este tipo (Vélez et al., 2014).

UCUENCA

Una enfermedad preocupante por su alto potencial zoonótico es la brucelosis,(Tuemmers et al., 2013) ya que una especie de *Brucella* puede afectar a varias especies domésticas y no necesariamente a su hospedador definitivo (Anyaocha & Majesty, 2020). Entre las especies que pueden afectar al hombre tenemos *Brucella canis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis* y la *Brucella melitensis*; sumado a esto la dificultad diagnóstica en el hombre, permite que se subestiman los casos positivos; la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó que se registran medio millón de casos nuevos al año en el mundo (Tuemmers et al., 2013).

Los perros se infectan de forma natural por *Brucella canis*, un estudio en Chile reportó una seroprevalencia del 1% en perros que viven en las calles de Temuco; aunque no bajo las mismas condiciones se han registrado prevalencias de 6.78% en Medellín, Colombia; en Buenos Aires, Argentina se encontró 7.3% de positividad; mientras que un estudio realizado en Turquía arroja un 28% de prevalencia para esta bacteria; para el año 2004 en Brasil se analizaron 635 perros de los cuales el 14.2% resultan ser positivos (Tuemmers et al., 2013). En un estudio reciente en Nigeria, de 123 muestras analizadas 34 resultan ser positivas para *Brucella canis* mientras que no se encuentra positividad para *Brucella abortus* (Anyaocha & Majesty, 2020).

Los perros que viven cercanos a zonas ganaderas pueden infectarse con *Brucella abortus* al consumir restos de abortos y placentas de bovinos infectados; se evidencia al existir reportes de un 7.5% de seropositividad en un estudio realizado en Argentina (Miceli et al., 2019).

UCUENCA

Los datos existentes hasta ahora muestran una prevalencia baja pero el riesgo existe al presentarse con mayor frecuencia en animales abandonados (Tuemmers et al., 2013). Un animal enfermo es la principal fuente de contagio o dispersión (Guzmán et al., 2016) permitiendo así que un pequeño porcentaje de perros portadores pueda considerarse un problema de Salud Pública (Tuemmers et al., 2013). Estos animales contaminan el medio ambiente al realizar sus actividades de supervivencia pues eliminan el agente mediante semen, orina, heces, secreciones vaginales y fetos abortados (Pérez, 2019).

Es así como esta investigación permitió obtener datos sobre la presencia de *B. canis* y *B. abortus* en los perros que frecuentan el Relleno Sanitario Pichacay permitiendo reconocerlos como un posible peligro para la salud pública del sector.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general:

Determinar la prevalencia de *Brucella canis* y *Brucella abortus* en perros que tiene acceso al Relleno Sanitario ubicado en el sector de Pichacay, en la parroquia Santa Ana del cantón Cuenca.

2.2 Objetivos específicos:

- Demostrar mediante pruebas serológicas la presencia de anticuerpos frente a *B. canis* y *B. abortus* en los perros que frecuentan el relleno sanitario
- Determinar la prevalencia de *Brucella canis* y *Brucella abortus* en perros del relleno sanitario ubicado en Pichacay.
- Analizar si la prevalencia de *Brucella canis* y *Brucella abortus* difiere según el sexo del animal.

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 El perro

3.1.1 Antecedentes

El perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) es un mamífero carnívoro que pertenece a la familia de los cánidos su origen es a partir de diferentes poblaciones de lobos; la relación entre humanos y el perro data hace unos 10.000-15.000 años como resultado del abandono por nomadismo de las sociedades humanas, los asentamientos producían basura y desperdicios (Hernández, 2012), los lobos silvestres buscaban alimento en campamentos humanos; el hombre lo encontró útil como alerta ante la presencia de invasores y así poco a poco fue seleccionándolo por su sociabilidad y carácter amable (Adell, 2017). Con el transcurso del tiempo se modificaron características genéticas en el lobo ancestral lo que dio como resultado cambios morfológicos y conductuales, el perro doméstico conserva características juveniles lo que vuelve más dispuesto a interactuar con otros animales y el ser humano así como ser dependientes de ellos (Hernández, 2012); al crearse un vínculo el hombre adquirió una responsabilidad y el perro una dependencia (Marín, 2019) para las actividades de alimentación, refugio y cuidados sanitario (CAR, 2016).

3.1.2 El perro callejero

Son aquellos que deambulan por la calle generalmente son mestizos se caracterizan por tener varios colores en el manto y diversidad en sus tamaños; en algún momento pertenecieron a un hogar y fueron abandonados o se perdieron. Algunos pueden ser parcialmente sociables, pero en su gran mayoría son agresivos

UCUENCA

con las personas. Generalmente forman jaurías para poder sobrevivir, estas no tienen un orden específico por lo que se consideran amorfas. Comúnmente se alimentan de desperdicios humanos y viven en edificios abandonados, terrenos baldíos, parques, plazas y botaderos. Cuando existe escasez de recursos para la supervivencia de grupo este puede desplazarse de territorio las distancias que recorran dependerá siempre del peso del animal (Cadena, 2013).

3.1.3 El perro semiferal

Estos mantienen de cierta forma una conexión con los humanos, se ubican en lugares con acceso a comida, cazan, forman jaurías y viven en sitios alejados; cuando las condiciones de su hábitat cambian y existe escasez de recursos salen de sus refugios se acercan a las poblaciones humanas en busca de alimento y después regresan a sus territorios (CAR, 2016).

3.1.4 El perro feral

En la actualidad las personas están evadiendo las responsabilidades adquiridas al momento de obtener una mascota; este es un problema a nivel mundial, los animales son sometidos a maltrato y abandono (Marín, 2019), como resultado de estas acciones existen los perros ferales (Cruz, 2009).

Los perros ferales son aquellos que han pasado de un estado doméstico a un estado salvaje (Tarazona, 2016) o por el nacimiento de camadas en sitios apartados (CAR, 2016). Estos animales cambian su comportamiento generalmente forman jaurías de 2 a 6 individuos en la que rige una estructura social similar a la de los lobos donde existe una pareja reproductiva monógama, sus crías y otros adultos. El tamaño de los grupos dependerá siempre de la disponibilidad de recursos en el

UCUENCA

sitio que habitan (Reátiga, 2015). Otra característica es que excavan madrigueras como refugio y hacen guardia para protegerlas (Tarazona, 2016).

Pueden alimentarse de los desperdicios orgánicos del hombre, alimentarse de restos de animales muertos o poner en práctica sus instintos de caza, desde pequeños y medianos mamíferos o de forma colectiva son capaces de matar grandes mamíferos (Reátiga, 2015). Para matar a sus presas desgarran el cuello o extremidades posteriores se alimentan en el sitio y consumen preferiblemente los órganos blandos como corazón, hígado, bazo y pulmones (Tarazona, 2016). El área que cubren para sus actividades de supervivencia son de 45.2 kilómetros cuadrados para las hembras y 124.3 kilómetros para los machos; pueden cambiar de área que habitan dependiendo de periodo reproductivo, fuentes de alimentación o cercanía humana (Reátiga, 2015).

3.2 Captura de mamíferos medianos

Trampas - Jaula: su tamaño es variable, depende de la especie que se quiere muestrear son metálicas y fijas al suelo. La más recomendada para uso en carnívoros es la trampa Tomahawk; conformada por una o dos puertas en forma de V que impide que el animal escape. Debe colocarse en los senderos que el animal a capturar usa frecuentemente; y el cebo a utilizar varía según la especie. Cuando los animales entran a comer el cebo accionan un dispositivo que cierra la puerta. Una vez preparada la jaula debe revisarse como máximo cada 12 horas. Las jaulas son seguras ya que minimizan el daño al animal capturado (De la Maza et al., 2013).

3.3 Zoonosis

Las zoonosis son todas las enfermedades transmisibles de forma natural entre el hombre y animales vertebrados (Rojas et al., 2016); las zoonosis emergen de la relación que existe entre los humanos-animales domésticos/silvestres y el ecosistema que habitan (Flores, 2010). Estas representan pérdidas económicas significativas por el alto costo de los tratamientos en medicina humana y por la pérdida de animales de abasto (Gil & Samartino, 2001).

Las enfermedades zoonóticas cuentan con ciertas características para su diseminación, como son: la capacidad de infectar a varios hospedadores, son enfermedades que pueden permanecer latentes o en forma subclínica, sus características clínicas son similares a las que presentan los animales de los que provienen, producen daños a la salud y pérdidas económicas, los animales silvestres transmiten actualmente el 70% de las enfermedades zoonóticas al hombre, el control de estas enfermedades es muy complejo (Flores, 2010).

Así también existen varios factores que pueden afectar su permanencia estos pueden ser: los factores ecológicos de las diferentes zonas geográficas, modificación de las condiciones ecológicas como la destrucción de la flora nativa y la caza de animales silvestres; el movimiento de la población humana y animal, además el propio comportamiento humano es un factor de riesgo para la aparición de una zoonosis (Gil & Samartino, 2001)

3.4 Brucelosis

La brucelosis es una zoonosis con impacto en todo el mundo tiene repercusiones en la salud pública como en la salud animal lo que genera pérdidas

UCUENCA

económicas para los ganaderos (Guzmán et al., 2016). Es endémica en la mayoría de las zonas que ha sido detectada, tal es caso del Medio Oriente, Asia, África, Centro América y Sudamérica, el Caribe y la cuenca Mediterránea. Los programas de erradicación implementados por países desarrollados han logrado erradicarla a excepción de España (Pontón, 2021); otro panorama se pinta para algunos países en vías de desarrollo que han logrado disminuir sus prevalencias en los últimos años (Carlosama, 2013).

3.4.1 Brucelosis en el Ecuador

Brucella spp. es un patógeno considerado endémico para el Ecuador, según el porcentaje de prevalencia el país fue dividido en regiones por el Ministerio de Agricultura y Ganadería. La región de alta prevalencia (4%- 10.62%) conformada por la zona norte de la sierra y todas las provincias de la costa; región de baja prevalencia (1.2- 2.6%) conformada por las provincias de la zona sur de la sierra y la amazonia (Morales & Morillo, 2021).

Para el periodo comprendido entre los años 2005 y 2015 en el país se registraron 1321 brotes de *B. abortus* con un total 6810 casos en bovinos, para el año 2015 en la provincia de Loja se reportan 2 muestras positivas de 60 animales muestreados para *B. canis* (Román-Cárdenas & Luna-Herrera, 2017).

3.4.2 Etiología

Las bacterias que conforman el género *Brucella* son pequeños cocobacilos con un diámetro de 0.5 a 0.7 μm y 0.5 a 1.5 μm de largo, gram negativos, inmóviles, no encapsuladas y que no forman esporas, además son considerados patógenos intracelular facultativos cualidad que les confiere su patogenicidad (Mathew et al.,

UCUENCA

2015). Estas bacterias resisten a la desecación, persisten por largo tiempo en el ambiente; tienen metabolismo oxidativo basado en la utilización de nitratos (Pontón, 2021).

3.4.3 Taxonomía

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Brucella*

Clase:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Proteobacteria alfa
Orden:	Rhizobiales
Familia:	Brucellaceae
Género:	<i>Brucella</i>

Fuente: (Pontón, 2021)

3.4.4 Especies

Las especies que integran el género *Brucella* incluye seis especies diferentes: *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae* y *B. maris* (Castro et al., 2005), esta diferenciación se fundamenta en el hospedador, en la sensibilidad a los bacteriófagos y en el perfil de metabolismo oxidativo (Stanchi et al., 2007).

Tabla 2. Huéspedes, especies de *Brucella*, vía de transmisión y patogenicidad

Huésped	Especie de <i>Brucella</i>	Vías de transmisión	Patogenicidad
Bovinos	<i>B. abortus</i>	Oral, nasal y conjuntival	Abortos, orquitis, epididimitis, ocasionalmente artritis
Cerdos	<i>B. suis</i>	Oral y genital	Aborto, esterilidad, orquitis
Ovinos	<i>B. ovis</i>	Genital	Abortos, epididimitis
Perros y otros cánidos	<i>B. melitensis</i> <i>B. abortus</i> <i>B. canis</i> , <i>B. suis</i>	Oral y genital	Abortos, esterilidad, epididimitis, dermatitis escrotal

Hombre	<i>B. melitensis</i> <i>B. abortus</i> <i>B. canis, B. suis</i>	Inoculación conjuntival, inhalación, cutánea, digestiva	Fiebre aguda e intermitente, adenopatías, hepatoesplenomegalia, complicaciones osteoarticulares.
---------------	---	---	--

Fuente:(Pontón, 2021)

3.4.5 Constituyentes bacterianos

Estas bacterias están constituidas por una membrana externa que contiene fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido (LPS); espacio periplasmático donde se encuentran enzimas, proteínas y un peptidoglucano(Stanchi et al., 2007); membrana interna se han descrito glicoproteínas y antígenos citosólicos(Carlosama, 2013).

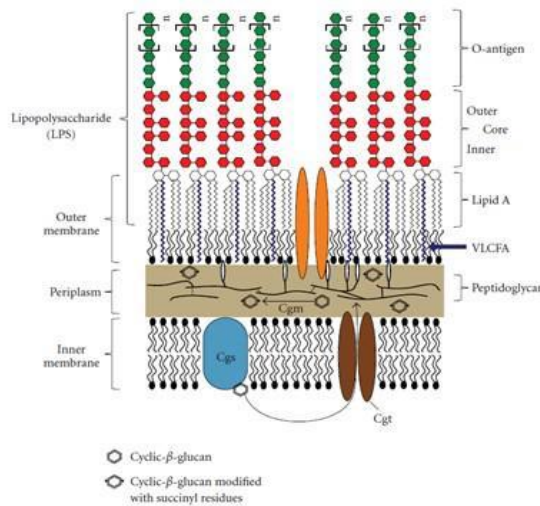


Figura 1. Representación esquemática de la envoltura celular de *Brucella*

Fuente: (Haag et al., 2010)

3.4.5.1 Membrana externa ME

Es una barrera que protege a la bacteria está compuesta por una bicapa fosfolipídica y proteínas con un grosor de 4.5nm (Carlosama, 2013). En esta membrana se distinguen: lípido A que se encuentra en la parte externa de la misma; el “core” que es un oligosacárido intermedio y el polisacárido O (PSO) o antígeno O (Stanchi et al., 2007).

La membrana externa de esta bacteria le confiere una diferenciación entre especies, según el aspecto que toman las colonias obtenidas por cultivo en medio sólido, por lo cual se han identificado dos tipos: las “lisas” (“smooth”) y las “rugosas” (rough”) o LPS-S y LPS-R, esta particularidad está dada por la presencia de PSO en las primeras y la ausencia en las segundas respectivamente (Stanchi et al., 2007).

El grupo de las lisas o LPS-S está conformado por *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* mientras que *B. canis* y *B. ovis* pertenecen al grupo de las rugosas o LPS-R (Morales & Morillo, 2021)

El LPS es el antígeno activo en la *Brucella spp*, este está compuesto por un oligosacárido unido a una proteína “M” y un lípido “A”, en el oligosacárido encontramos un polisacárido y un polisacárido de antígeno “O” (Carlosama, 2013); este compuesto antigénico no produce fiebre, es mal conductor de citoquinas, tampoco activa la cascada de complemento e induce muy poca formación de linfocito B (Stanchi et al., 2007).

Otras funciones que cumple el LPS de *Brucella* son interviene en el tráfico celular, en el control de la respuesta inmune de la célula, además disminuye la

UCUENCA

activación de linfocitos T porque inhibe la presentación antigénica. El antígeno O impide la apoptosis del macrófago hospedador. El lípido A y Core presenta menos cargas negativas lo que le confiere a la bacteria una menor permeabilidad a sustancias como la lisozima y polimixina B, evitando su destrucción (Bialer, 2019).

3.4.5.2 Espacio periplásmico

Este espacio es el encargado de mantener la forma y la integridad osmótica de la bacteria ya que aquí encontramos un gel glucopeptídico y proteínas que le confieren esta facultad (Salazar, 2019).

3.4.5.3 Estructura interna

La membrana interna (MI) es esencialmente una capa bifosfolipídica conformada en su mayoría por fosfaditilcolina (PC), estos contribuyen a la permeabilidad de la bacteria siendo mayor para compuestos hidrofóbicos y menor para péptidos catiónicos. La función de la MI es la síntesis y transporte de sustancias precursoras y proteínas plegados para la formación de la ME (Bialer, 2019).

Brucella spp. posee proteínas citoplasmáticas específicas como glicoproteína A2, proteína periplásmica BP26 y la 17kDa que participa en la síntesis de riboflavina, esta desempeña un papel importante en la fase activa de la infección (Ramírez, 2018).

Por otro lado, el citoplasma es rico en proteínas, ADN y ARN que son sustancias importantísimas para la aplicación de varias técnicas diagnósticas (Salazar, 2019).

3.4.6 Transmisión

En los animales la transmisión puede ser de forma horizontal si un animal sano tiene contacto sexual con un animal infectado o cuando lame los órganos genitales, membranas fetales, fetos abortados y crías recién nacidas (Álvarez et al., 2015). Otra forma de transmisión es la vertical por la placenta o a través de la lactancia (Pérez, 2019).

En el humano la transmisión puede darse por tres vías: contagio directo cutáneo o conjuntival cuando maneja animales infectados o sus productos, por vía digestiva al consumir lácteos sin control sanitario, por vía respiratoria al inhalar el microorganismo en entornos contaminados (Colmenero, 2018). Para el hombre la especie más patógena es *B. melitensis*, seguida por *B. abortus* de patogenicidad media y *B. canis* de patogenicidad baja (Giraldo, 2014).

En los humanos se ha evidenciado cierta resistencia natural a la infección por *B. canis* sin embargo existe reporte de casos esporádicos en Argentina, Estados Unidos y Colombia desde el año 1948 en personas que mantienen contacto con perros de albergues, mascotas y criaderos (Ramírez, 2018).

La supervivencia de la bacteria es un factor importante para la transmisión de la misma, en ambientes húmedos, el pasto fresco y el agua se mantiene activa más de dos meses y por tiempo más prolongado en sustratos secos. En los órganos contaminados y la sangre a temperatura de 4°C así como en carne congelada puede vivir varios meses y hasta años (Ramírez, 2018).

Tabla 3. Supervivencia de *Brucella spp*

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones en verano	10-30 min
Lanas o pelo almacenada	110 días
Agua a 37°C y pH 7.5	Menos de 24 horas
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	6 días
Material fecal húmeda y con frío	240 días
Helados	4 meses
Secreciones postparto de animales	1-2 meses

Fuente: (Ramírez, 2018)

Cuando un perro contrae *B. canis* la bacteria se mantiene viable hasta por seis semanas en la secreciones vaginales después del aborto (Santamaría, 2018). Y cuando se contagia de *B. abortus* la bacteria puede ser detectada hasta por 42 días en el material eliminado, la seropositividad puede durar hasta tres años (Baek et al., 2003) lo que lo vuelve un contaminador ambiental pues dispersa la bacteria (Tuemmers et al., 2013) en la orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados o heces (Miceli et al., 2019).

3.4.7 Patogenia

Brucella spp. se adhiere a la membrana mucosa para atravesar el epitelio, cuando ha ingresado al organismo la bacteria desencadena la respuesta del sistema

UCUENCA

monocito, macrófagos y células fagocíticas e ingresa a los nodos linfáticos locales a través de los mismos (Barreto et al., 2020), llega por el torrente sanguíneo al hígado, el bazo y ganglios linfáticos en general donde se multiplica (Colmenero, 2018) tras un periodo de incubación de 7 a 30 días, se libera al sistema circulatorio e induce bacteriemia intermitente (Pontón, 2021).

Esta bacteria es muy virulenta y patogénica pues se trata de un microorganismo intracelular facultativo con la capacidad de internalizarse en las células fagocíticas y otras células como fibroblastos y células epiteliales donde se multiplican (Sbriglio et al., 2007), esta cualidad le confiere resistencia ante el sistema inmunitario del infectado así como a los antibióticos (Ramírez, 2018).

El macrófago es la célula más importante para la infección por *Brucella spp*, es aquí donde se replican y además le permite propagarse a todo el organismo (Navarro, 2017), este patógeno en las primeras horas de infección usa al neutrófilo como camuflaje para poder invadir al macrófago y poder sobrevivir a la inmunidad del organismo (Nuñez, 2019).

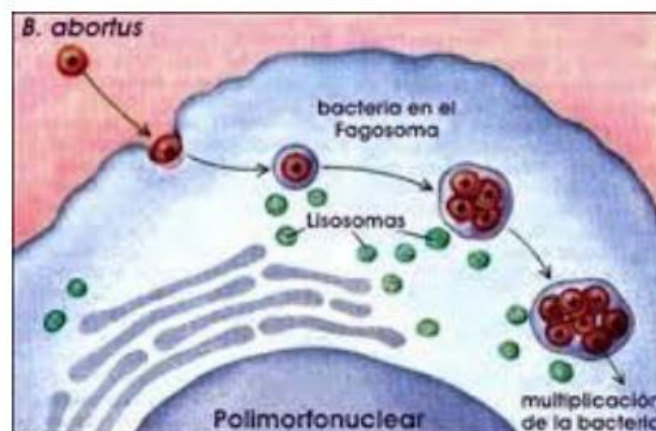


Figura 2. Representación de la fagocitosis de *Brucella abortus* por un polimorfonuclear
Fuente:(Ramírez, 2018)

Brucella spp. resiste dentro de los macrófagos por que inhibe la formación del fagolisosoma (Tobar, 2019), inhiben la activación del sistema mieloperoxidasa-haluro y la degranulación, además resisten el medio ácido de la célula secretando proteínas, sintetizando adenina, enzimas antioxidantes y produciendo guanosina 5´monofosfato (GMP) (Ramírez, 2018).

Esta bacteria tiene como síntoma principal el aborto repetido pues tiene una afinidad por la placenta debido a que es rica en receptores de manosa y el eritritol que es un factor de crecimiento. El aborto es la consecuencia de la inflamación placentaria y necrosis de los cotiledones, en los bovinos, por la invasión bacteriana. Estos tejidos se vuelven amarillentos, blandos y con un exudado parduzco (Salazar, 2019).

3.4.8 Respuesta inmunitaria

Cuando el género *Brucella spp.* ingresa a organismo induce la respuesta inmune innata, aquí se activan los neutrófilos, macrófagos, células Natural killer, el complemento C (Santamaría, 2018). En esta etapa temprana las células fagocíticas y el complemento se encargan de reducir el número de bacterias (Ramírez, 2018).

Los neutrófilos responden a estímulos químicos fagocitan la bacteria y desencadenan la degranulación para lisis de la misma. Los macrófagos producen citoquinas, cumplen función fagocíticas y generan anticuerpos que presentan a los linfocitos T por la vía del complejo mayor de histocompatibilidad (Ramírez, 2018).

Al activarse los linfocitos T se desencadena lo que se conoce como la respuesta inmune adaptativa la cual puede sintetizarse en: la producción de INF- γ por parte de las células T CD4+ y CD8+ para iniciar la actividad bactericida de los

UCUENCA

macrófagos. Los macrófagos infectados son eliminados por las células T CD8+. Las células Th1 producen IgG2a para que se unan al patógeno y faciliten la fagocitosis (Ramírez, 2018).

La respuesta humoral se caracteriza por la producción de anticuerpos en primera instancia se producen los IgM los cuales disminuyen los tres meses después de iniciada la infección; para la segunda semana las IgG aumentan (Tobar, 2019) las cuales están presentes por más tiempo y alcanzan niveles más altos, cuando existe aumento persistente de esta inmunoglobulina es debido a que la infección ha sobrepasado los mecanismos primarios de inmunidad del hospedador motivo por el cual el aumento persistente se vincula a la presencia de infección (Mariño-Jannaut, 2000).

3.4.9 Signos y síntomas

El curso de la infección por *Brucella* en algunos animales puede ser asintomática (Colmenero, 2018) pero en caso de presentarse síntomas los comunes son: inflamación u ojos nublados, infección de los discos de la columna vertebral, debilidad, letargo, inflamación de los ganglios linfáticos, fiebre, movimientos involuntarios en casos crónicos(Tobar, 2019).

3.4.9.1 Síntomas de *Brucella canis*

Este patógeno fue descrito por primera vez en el sudeste de estados unidos en el año de 1966, pertenece al grupo de LPS-R es decir rugosa (Arcos, 2018). Los canidos son los hospedadores naturales (Maza & Morales, 2016) aunque el ganado y el hombre pueden contraerla (Santamaría, 2018).

UCUENCA

Generalmente los perros infectados no presentan fiebre y el examen clínico no es suficiente para un diagnóstico. En la hembra canina el signo principal es el aborto que ocurre entre el día 45 a 55 para el 75% de los casos (Tobar, 2019).

En otros casos ocurre un aborto temprano que pasa desapercibido confundiendo como una falla de concepción (Pérez, 2019). Cuando las crías llegan a término pueden morir al poco tiempo, nacer débiles o desarrollar después la enfermedad (Tobar, 2019).

Los machos presentan degeneración testicular, orquitis, epididimitis, dermatitis escrotal e infertilidad, la última debido a las anomalías en el semen, la falta de eyaculado, la falta o baja concentración de espermatozoides y el daño su movilidad (Arcos, 2018).

Los humanos que han contraído la infección pueden presentar o no síntomas, cuando existen, los más característicos son alteración en los movimientos causados por daño degenerativo del sistema osteomuscular (Ramírez, 2018).

3.4.9.2 Síntomas de *Brucella abortus*

Este patógeno es el más conocido a nivel mundial se reporta con mayor frecuencia en Latinoamérica; se distinguen 7 biovariedades, afecta a los bovinos domésticos, búfalos y puede infectar a otros rumiantes como ovejas, cabras, ciervos y camellos (Ramírez, 2018).

En los bovinos afecta principalmente a la reproducción, el síntoma principal es el aborto en el último tercio de la gestación debido a que la bacteria invade el endometrio y prolifera en la placenta; cuando el feto sobrevive nace prematuro y poco viable, también se observan casos frecuentes de retención placentaria e

infertilidad (Salazar, 2019). En los bovinos machos podemos observar orquitis, abscesos testiculares, epididimitis, inflamación articular e higromas (Ramírez, 2018).

En el perro *B. abortus* puede ocasionar fiebre leve de 38.5°C (Baek et al., 2003), aunque son raras otras manifestaciones en la bacteriemia transitoria se observan linfadenopatías (Miceli et al., 2019).

3.4.9.3 Síntomas de brucelosis en humanos

Fiebre ondulante es como se denomina a la brucelosis humana se considera una zoonosis endémica en los países de tercer mundo y afecta a personas de todos los grupos etarios y sexo. Las especies que producen esta patología son: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis* (Leonidas et al., 2020).

La brucelosis humana se manifiesta como un síndrome febril acompañada de escalofríos, sudoración, dolor articular y malestar general. Esta puede afectar a cualquier órgano; por ejemplo, es muy característico encontrar adenopatías en pacientes pediátricos; el hígado generalmente es uno de los órganos más afectado y de los pacientes contagiados un 20% desarrolla esplenomegalia, además podemos observar alteraciones maculo pulposo en la parte abdominal de los infectados (Colmenero, 2018).

También se reportan esterilidad, abortos, inflamación testicular e impotencia sexual. Por otro lado, el 20 al 60% de los casos presentan artritis, osteomielitis y espondilitis, así como también existen reportes de complicaciones a nivel de sistemas nervioso central presentándose cuadros de meningitis, encefalitis y abscesos cerebrales. Otras complicaciones menos frecuentes son pericarditis,

endocarditis y abscesos de cayado. También se pueden ver comprometidos el sistema respiratorio, genitourinario y gastrointestinal (Ramírez, 2018).

3.4.10 Métodos diagnósticos

Los métodos de diagnóstico para detectar *Brucella* son dos: los directos y los indirectos (Pérez, 2019).

3.4.10.1 Métodos directos

3.4.10.1.1 Cultivo microbiológico

Estos detectan la presencia del agente; las muestras predilectas para el aislamiento de este patógeno son orina, sangre y tejidos recuperados de fetos abortados (Pérez, 2019). El crecimiento se da entre 5 a 7 días y se necesitan pruebas bioquímicas y subcultivos en medios coloreados para determinar la variante (Carlosama, 2013).

3.4.10.1.2 Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Este es un método de detección molecular que revela la presencia de material genético de *Brucella* spp., es muy confiable pues tiene alta sensibilidad y especificidad, que además permite identificar las biovariantes existentes (Carlosama, 2013).

3.4.10.2 Métodos Indirectos

Estos detectan la presencia de anticuerpos inducidos en respuesta al contacto con *Brucella* spp. (Pérez, 2019).

3.4.10.2.1 Rosa de bengala

Se trata de una prueba tamiz que pertenece a las conocidas como prueba de antígeno tamponado; es una técnica cualitativa de ejecución y observación rápida.

UCUENCA

Se fundamenta en la inhibición de aglutinas inespecíficas a pH bajo; la cual evidencia anticuerpos de tipo IgG (Salazar, 2019).

Cuando la prueba se realiza en bovinos puede darse el caso de observar falsos positivos, generalmente ocurre en animales vacunados con cepa C19 (Carlosama, 2013).

Pourquier* Rose Bengale Ag, es una de las marcas más utilizadas el antígeno que utiliza este kit es cepa 99, Weybridge. Esta prueba considera positiva todo suero en el que haya aglutinación y negativas todos aquellos en los que no se observe (IDEXX, 2015)

3.4.10.3 ELISA

Es un inmuno ensayo que detecta anticuerpos específicos para brucelosis en muestras de suero; los antígenos que utiliza son extractos o fracciones de los microorganismos en estudios absorbidos de microplacas. Es una de las pruebas más sensibles en la actualidad (Remache, 2019).

3.4.10.3.1 ELISA Indirecto IDEXX Brucellosis serum

Es un inmuno ensayo que detecta anticuerpos frente a *Brucella abortus*. El suero analizar se diluye e incuba en los pocillos de las placas de revelado tapizadas con el lipopolisacárido (LPS) de Brucella. Si hay un anticuerpo específico en la muestra analizada se forma un complejo LPS de antígeno anticuerpo; después de un lavado se agrega un conjugado de anticuerpo anti-rumiante unido a una enzima, tras otro lavado se coloca un sustrato que se oxida y colorea azul que cambia a amarillo cuando se coloca una solución de frenado. La potencia del color depende

UCUENCA

de la cantidad de anticuerpos específicos en el suero. Es así como una muestra será positiva al comparar su densidad óptica con la del control positivo (Idexx, 2019)

3.4.10.3.2 ELISA en base sólida ImmunoComb® Canine Brucella Antibody

Test Kit

Es un kit que contiene dos componentes principales, una tarjeta de plástico en forma de peine y una placa de revelado con varios compartimientos. Este test es una prueba ELISA modificado en base sólida que detecta los niveles de anticuerpos en suero, plasma o sangre total; tiene una especificidad de 93% y una sensibilidad de 98% (Biogal Galed Labs, 2007).

Este es un ensayo puntual etiquetado con enzima en manchas de prueba, los anticuerpos IgG específicos para *B. canis* en las muestras recolectadas se unen al antígeno en los puntos de prueba; finalmente si una muestra estudiada es positiva se observará una coloración gris-violeta la intensidad dependerá de la cantidad de anticuerpos en la muestra, todas estas serán positivas si son igual o más oscuras que el control positivo. La lectura de los resultados en el InmunoComb se realiza con una escala de color incluida en el kit, la coloración del punto superior o control positivo es el que se marca como S3, generalmente la coloración será gris-violeta; S3 es el punto de corte de anticuerpo IgG y equivale a una respuesta inmune positiva aun título de 1:200 según el ensayo inmunofluorescente, esto le confiere a la prueba la cualidad de semicuantificar los anticuerpos presentes en las muestras analizadas (Biogal Galed Laboratories Acs Ltd, 2018).

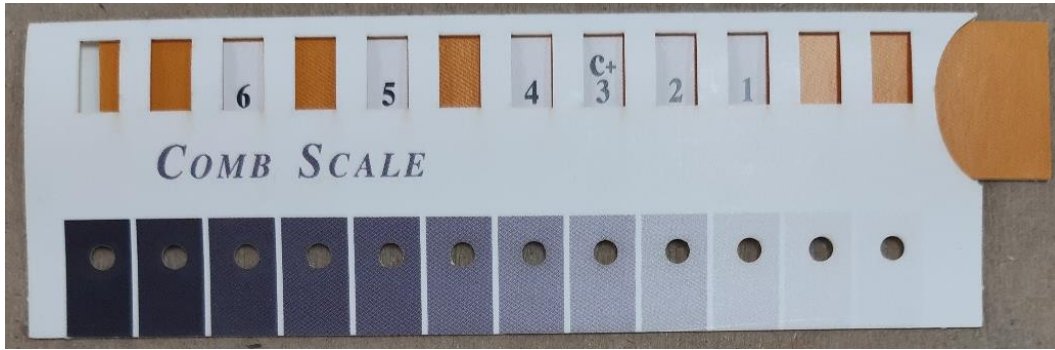


Figura 3. Comb Scale
Fuente: Autora

Tabla 4. Interpretación de resultados

IC* Puntaje	Resultado	Situación Clínica	Interpretación	Recomendaciones
0	Negativo	Perro sano	Indetectables niveles de anticuerpo IgG para <i>B. canis</i>	Volver a comprobar antes de la siguiente cría
		Perro sospechoso		Volver a comprobar en 7-10 días
1-2	Bajo	Perro sano	Insignificantes niveles de anticuerpos IgG para <i>B. canis</i> Los resultados pueden ser no específico	Volver a comprobar antes de la siguiente cría
		Perro sospechoso		Volver a comprobar en 7-10 días
3	Mediano	Perro sano	Positivo título de anticuerpos IgG. Confirma exposición del perro a <i>B. canis</i>	Llevar a cabo confirmatorio, aislar al perro hasta que se tome una decisión sobre su destino
		Perro sospechoso		Aislar al perro hasta que se tome una decisión sobre su destino
≥4	Elevado	Perro sano	Títulos de IgG significativa. Confirma exposición del perro a <i>B. canis</i>	Aislar al perro hasta que se tome una decisión sobre su destino
		Perro sospechoso		Aislar al perro hasta que se tome una decisión sobre su destino

Fuente: (Biogal Galed Labs, 2007)

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Materiales biológicos

- Muestras sanguíneas de perros ferales
- Carnadas

4.1.2 Materiales físicos

- Tubos vacutainer sin anticoagulante
- Agujas vacutainer
- Cooler
- Lazo torniquete
- Guantes de Nitrilo
- Gradilla
- Cámara fotográfica
- Tubos eppendorf
- Puntas de pipetas desechables
- Jaulas
- Centrífuga
- Incubadora
- Pipetas automáticas
- Pisseta
- Cronómetro
- Lector de placas ELISA

UCUENCA

4.1.3 Materiales químicos

- Alcohol 70%
- Agua destilada
- Kit ELISA Competitivo Svanova- Brucella Abortus
- ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit
- Reactivo Rosa de Bengala- IDEXX

4.1.4 Materiales de oficina

- Fichas de campo
- Medios Extraíbles (Memory USB)
- Computadora

4.2 Métodos

4.2.1 Localización geográfica del estudio



Figura 4. Ubicación satelital del Relleno Sanitario Pichacay
Fuente: Directorio cartográfico de Google Maps, 2020

La investigación se realizó en el Relleno Sanitario de Pichacay, el cual cuenta con un área 123 hectáreas, ubicado en la parroquia Santa Ana a una distancia de

UCUENCA

21 km de la ciudad de Cuenca, con una ubicación exacta dadas en coordenadas geográficas 2°57'56.10"S 78°55'47.96" O; en un piso altitudinal de 2619 msnm. El clima de la zona es templado-seco. Su funcionamiento inició el 3 de septiembre del 2001 y cuenta con licencia ambiental otorgada por el Ministerio del Ambiente para su funcionamiento desde el 14 de diciembre del 2002. Según las toneladas diarias de basura que recibe se estima que su funcionamiento será hasta el año 2031. La parroquia Santa Ana tiene una extensión territorial de 4731.94 Ha, según el INEC hasta el 2010 tenía 5366 habitantes (Conto & Tipán, 2018).

4.2.2 Población: Muestra

El cálculo de la muestra se basó en la fórmula de Canon y Roe para determinar la presencia de una enfermedad en un sitio de interés (Jaramillo & Martínez, 2010); para esto se utilizó una población de 400 perros (Porrás, 2019), con una prevalencia estimada en la zona más cercana de 6.78%(Tuemmers et al., 2013), con un nivel de confianza de 95% y 5% de error. Siendo necesario evaluar 50 perros.

$$n = [1 - (1 - \alpha)^{1/E}] \left[N - \left(\frac{E - 1}{2} \right) \right]$$

4.2.3 Criterios

4.2.3.1 Criterios de inclusión

- Animales mayores de un año de edad.
- Se incluyen hembras y machos.

4.2.3.2 Criterios de exclusión

- Animales menores de un año de edad.

4.2.4 Selección de los animales

Se recolecto 50 muestras sanguíneas de forma aleatoria, de perros que frecuentan el Relleno Sanitario Pichacay, todos estos en edad reproductiva sin distinción de sexo, raza, peso y tamaño.

4.2.5 Recolección de sangre

4.2.5.1 Captura y sedación de animales

La captura se realizó en horas tempranas de la mañana, para esto se utilizaron trampas de jaula con carnada de pollo; el sistema consiste en que el perro toma la presa y al halarla se cierra la puerta quedando atrapado dentro de la jaula. La sedación fue mediante dardos que contiene la combinación anestésica de ketamina y xilacina, la mezcla se deposita intramuscular la cual produce su efecto sedante al cabo de 3 a 7 minutos, los perros toman una posición decúbito y pueden permanecer bajo los efectos de los medicamentos alrededor de 25 minutos.

4.2.5.2 Toma de muestras, transporte y centrifugación

Se extrajo 5ml de sangre de la vena cefálica de en tubos vacutainer sin anticoagulante; el área de punción se desinfecto previamente con alcohol al 70% se dejó secar y se procedió. Las muestras se transportaron en un contenedor de cierre hermético con una temperatura interna de entre 4° a 8°C. Una vez en el laboratorio las muestras fueron centrifugadas a 3000 r.p.m. por cinco minutos para la obtención del suero, seguido se hicieron dos alícuotas en tubos eppendorf y se almacenaron a -20° C hasta ser analizadas.

4.2.6 Determinación de la presencia de anticuerpos a *Brucella canis*

Se evaluaron las muestras de suero obtenidas de cada animal con ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit, el protocolo a seguir es que describe el fabricante (Biogal Galed Laboratories Acs Ltd, 2018).

- Primero se atempero todos los componentes del kit al igual que el suero problema a 37°C.
- Se agitó la placa de revelado para mezclar los reactivos, se perfora con las pinzas la cubierta protectora de cada pocillo de la fila A que se vaya a utilizar.
- Se deposita 5µl de suero en la fila A y se pipetea para lograr que se mezcle el suero con el reactivo.
- Se retira el protector al peine y se introduce el mismo en la placa de revelado y se hacen movimientos de arriba hacia abajo para que se mezcle de mejor manera.
- El peine se introduce por 5 minutos en la fila A para que incube, mientras tanto se perfora la cubierta de la fila B y así de cada fila según se vaya utilizando.
- Pasado el tiempo de incubación se retira el peine se sacude el exceso y se introduce por 2 minutos en la fila B.
- Se perfora la cubierta de la fila C se le retira el exceso al peine y se incuba por 5 minutos en la fila C.

UCUENCA

- Seguido se retira la cubierta de la fila D se retira los excesos y se introduce el peine por 2 minutos en esta fila.
- Se repite el proceso y tiempo para la fila E.
- Se retira el exceso del peine y se lo introduce por 5 minutos en la fila F cuando termina el tiempo de incubación se retira el exceso y para finalizar se regresa el peine a la fila E por 2 minutos; se lo retira y se deja secar por 5 minutos antes de leerlo.

Todos los sueros que resultaron positivos mostraron una coloración gris-púrpura en la parte inferior del peine. Para la interpretación de los resultados se tomó como referencia el punto en la parte superior del peine que es el denominado control positivo, además se categoriza las reacciones con ayuda del CombScale que incluye el kit.

4.2.7 Determinación de la presencia de anticuerpos a *Brucella abortus*

Primero se aplicó el test Pourquier® Rose Bengal Ag como una prueba filtro: se siguió el protocolo que plantea el fabricante (IDEXX, 2015).

- Primero se atemperará el reactivo y el suero a temperatura ambiente a 18° por 30 minutos.
- En la placa de titulación dividida en cuadrículas se colocó 30µl del control positivo y 30µl control negativo.
- En seguida y respetando las divisiones de la placa de titulación se colocaron las muestras de suero de tal forma que no se junten entre ellas.

UCUENCA

- Se depositó 30µl de cada suero a testear y enseguida se coloca 30µl del reactivo Rosa de Bengala.
- Con un palillo se mezcló el suero con el reactivo, luego se continuó mezclando con movimientos circulares durante cuatro minutos.

Se consideró positivas todas las muestras que mostraron aglutinación y todas las que no fueron negativas.

Se realizó una prueba confirmatoria para esto se utilizó IDEXX Brucellosis Serum este es un inmuno ensayo para la detección de anticuerpos para brucelosis, para realizar esta prueba se siguió las instrucciones del fabricante (Idexx, 2019).

- Primero se preparó la solución de lavado concentrada a una dilución de 1:20 en agua destilada.
- Después se preparó el conjugado, se diluyó el Conjugado Concentrado a una proporción de 1:100 con la solución tampón n°1.
- Se separó los pocillos tapizados con antígeno que vamos a utilizar y los dejamos que alcancen los 18°C.
- Se colocó 190µl de Solución Tampón de dilución n°2 en cada pocillo
- Se dispensó 10µl de Control Negativo no diluido en pocillos duplicados
- Se colocó 10µl de Control Positivo no diluido en pocillos duplicados
- Se colocó 10µl de muestra no diluida en el resto de pocillos
- Mezclar el contenido de los pocillos en un agitador
- Se cubrió la placa e incubar por una hora a 26°C

UCUENCA

- Se eliminó el contenido de los pocillos y lavó con 300µl de Solución de Lavado, se repitió 3 veces
- Se colocó 100µl de Conjugado diluido en cada pocillo
- Se dejó incubar a 26°C por 30 minutos
- Se lavó por segunda vez
- Se colocó 100µl de Substrato TMB n°13 en cada pocillo
- Se dejó incubar por 20 minutos a 26°C
- Se colocó 100µl de Solución de Frenado n°3 en cada pocillo
- Finalmente se midió los valores de Densidad Óptica a 450nm

Se consideró positivas todas las muestras que alcanzaron un porcentaje de densidad óptica sea mayor o igual a 120, negativas todas aquellas menores o igual a 110% y todas las que se ubicaron entre 110 y 120 se consideraron dudosas.

4.3 Análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva mediante tablas de contingencia, los datos fueron tabulados mediante la hoja de cálculo Excel y para el cálculo de la prevalencia se realizó un análisis en relación a la proporción de animales seropositivos a *B. canis* y *B. abortus* al total de animales muestreados según la fórmula (Santamaría, 2018):

$$TP = \frac{\text{Total de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron analizados 50 sueros de perros, de las muestras obtenidas el 66% pertenecen a hembras y el 34% machos. A todos los sueros se les aplicó el ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit, Pourquier® Rose Bengal Ag y IDEXX Brucellosis Serum para detectar *B. abortus*.

Tabla 5. Total, de muestras analizadas y la proporción entre hembras y machos.

Distribución de muestras según el sexo

Sexo	Número	Porcentaje
Hembras	33	66%
Machos	17	34%
Total	50	100%

Fuente: Autora

5.1 Prevalencia de *Brucella canis*

Después del análisis de las muestras con ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit se obtuvo un total de 19 sueros positivos para anticuerpos a *B. canis* y los 31 restantes fueron negativos.

Tabla 6. Prevalencia total de perros expuestos a *Brucella canis*.

Prevalencia de *B. canis*

Casos	Número de casos	Porcentaje
Positivos	19	38%
Negativos	31	62%
Total	50	100%

Fuente: Autora

Basados en esto la seroprevalencia general de *B. canis* se calcula en un 38% considerada alta, eso significa que un perro en ese lugar tiene el 38% de probabilidades de estar afectado. El dato que más se aproxima se reporta en Nigeria

UCUENCA

donde se testearon 123 sueros de perros con el ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit, los animales estudiados pertenecían a mataderos, clínicas veterinarias y algunos que presentaron antecedentes de fallo reproductivo en sus hogares; así observaron una prevalencia de 27.7% (Anyaocha et al., 2020), en condiciones diferentes en el distrito los Olivos en Lima Perú donde evaluaron 288 perros que llegaron a centros veterinarios y obtuvieron una prevalencia de 4.9% (Maza & Morales, 2016).

En el Ecuador se reportó una prevalencia del 15% de 75 perros domésticos analizados de la comunidad San Agustín de Callo en la provincia de Cotopaxi, esta prevalencia se considera baja, pero hay que especificar que los animales viven bajo condiciones óptimas (Tobar, 2019), también es necesario recordar que esta patología está ligada a caninos callejeros, de albergues y criaderos (Maza & Morales, 2016). Un estudio realizado en Paraguay donde se muestrearon 52 hembras caninas del barrio Primavera ciudad de Concepción donde para identificar las muestras positivas utilizaron prueba inmunocromatográfica aquí obtuvieron una positividad de 9.6% lo que es decir 5 animales han estado expuestos a *B. canis* (Colman et al., 2017).

5.1.1 Prevalencia de *B. canis* según el sexo

Del total de las muestras positivas se observa que 13 sueros de perros pertenecen a hembras mientras que solo 6 pertenecen a machos.

Tabla 7. Resultados del test de *Brucella canis* por sexo

Resultados de <i>B. canis</i> por sexo			
Casos	Positivo	Negativo	Prevalencia %
Hembras	13	20	39,4
Machos	6	11	35,3

Fuente: Autora

La prevalencia para *B. canis* en hembras representa un 39.3% de los casos positivos mientras que los machos tienen un 35.2% de positividad, datos parecidos a los que se reportaron en un estudio en la comunidad de Chorocopte provincia de Cañar donde se analizaron 200 sueros caninos mediante ELISA cuantitativo de los cuales 20 (10%) resultaron ser positivos, de estos el 55%, es decir 11 de los casos eran hembra y el 45% restante que son 9 casos eran machos (Delgado, 2021). Anyaoha y col (2020) también reportan seroprevalencia de 21.3% en hembras y 6.0% en machos, lo que atribuyen a la mayor afinidad que tiene la bacteria por el aparato reproductor de la hembra además de la placenta que produce eritritol que es un factor de crecimiento para la misma. Podríamos atribuir también a que la población de caninos hembras es mayor en la jauría.

Como ya se explicó antes el ImmunoComb® Canine Brucella Antibody Test Kit trae adjunto una escala para poder semicuantificar los títulos de anticuerpos contra *B. canis* siendo así que se obtuvo 5 reacciones por encima de S3, es decir mayores a 1:200 títulos de anticuerpos; de estas 4 muestras pertenecen a hembras y 1 a macho; en el estudio de Anyaoha y col (2020) atribuyen esto a las infecciones recurrentes provocadas por un macho con infección persistente. Las 14 muestras positivas restantes se ubicaron en S3.

UCUENCA

Tabla 8. Niveles de títulos de anticuerpos para *Brucella canis* y según el sexo.

Escala de seropositividad según el InmunoComb			
Casos	Hembras	Machos	Porcentaje
Títulos Ac \geq S4	4	1	26,32
Títulos Ac S3	9	5	73,68
Total	13	6	100

Fuente: Autora

5.2 Prevalencia de *Brucella abortus*

Se sometió las muestras a la prueba tamiz Rosa de Bengala una muestra resultó seropositiva



Figura 5. Suero positivo a Rosa de Bengala

Fuente: Autora

Al evaluar las muestras con el test ELISA indirecto IDEXX Brucellosis Serum todas las muestras fueron negativas. Los resultados obtenidos concuerdan con el estudio realizado en Nigeria donde la prevalencia de *Brucella abortus* en perros es 0% (Anyaocha et al., 2020) pero difiere de un estudio en Argentina donde fueron

UCUENCA

testeados 67 caninos con una prueba BPA (aglutinación rápido) como prueba tamiz, 18 (26.8%) animales resultaron positivos, luego de esto realizaron pruebas confirmatorias SAT y 2-Me donde solo el 7.5% fueron realmente positivo; los falsos positivos obtenidos en las pruebas tamiz se justifica por una reacción cruzada con otras bacterias Gram negativas que comparten características de la membrana celular con el género *Brucella spp.* (Miceli et al., 2019).

En Corea del Sur el Departamento de Salud Pública de la Universidad Nacional de Chonbuk publicó un estudio en tres perros mestizos que resultaron positivo a *B. abortus*, afirman que estos canes se contagiaron naturalmente al convivir con 131 vacas lecheras de las cuales 84 fueron sacrificadas por resultar positivas al patógeno (Baek et al., 2003).

6 CONCLUSIONES

- Se confirmó la presencia de anticuerpos frente *B. canis* y la ausencia de anticuerpos frente *B. abortus* en las muestras recolectadas de perros que frecuentan el Relleno Sanitario Pichacay.
- La prevalencia calculada para *Brucella abortus* en los perros de este estudio es nula, mientras que la prevalencia para *Brucella canis* (38%) es considerada alta en relación con otros estudios en el país, probablemente se deba a que estos animales viven en situación de abandono.
- Se determinó que la prevalencia de *B. canis* es mayor en hembras (39.3%) que en machos (35.2%), posiblemente este se deba a la afinidad que tiene la bacteria por el órgano reproductor grávido de las hembras, además de que un solo macho tiene la capacidad de infectar y reinfectar a varias hembras.

7 RECOMENDACIONES

- Debería ampliarse las investigaciones sobre brucelosis en perros, enfocándose en sitios donde se encuentran animales en situación de abandono, haciendo énfasis en los botaderos de basura en las diferentes ciudades del país, pues son los lugares óptimos para el asentamiento de jaurías porque brinda acceso a alimentos y facilitan la reproducción.
- Los perros deben incluirse en los programas gubernamentales para el control y la erradicación de la brucelosis, porque pueden actuar como vectores para la propagación de la enfermedad a otros perros, otros animales domésticos y el hombre.
- Luego de haber demostrado que los perros en condición de abandono tienen una alta tasa de prevalencia de *B. canis*, una de las medidas preventivas importantes es promover la reducción de la población canina en abandono, estableciendo programas educativos sobre tenencia responsable, además de establecer programas de esterilización para perros abandonados.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Adell, M. (2017). *Estudio de las principales zoonosis parasitarias intestinales transmitidas por perros en la provincia de Castellón y repercusión en Salud Pública* [Universidad CEU Cardenal Herrera].
https://repositorioinstitucional.ceu.es/bitstream/10637/8568/4/Estudio_Adell_UCHCEU_Tesis_2017.pdf
- Álvarez, N., Ortiz, M., & Díaz, M. (2015). Investigación Brucellosis : A common zoonoses. *Revista de Medicina e Investigacion - ELSEVIER*, 3(2), 132,133.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.mei.2015.07.002>
- Anyaocha, C. O., Majesty-Alukagberie, L. O., Ugochukwu, I., Nwanta, J., & Anene, B. (2020). Seroprevalencia y factores de riesgo de la brucelosis en perros de los Estados Enugu y Anambra , Nigeria. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(40), 45,47, 50, 55. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-93542020000100045&script=sci_abstract&tIng=es
- Arcos, M. (2018). *Prevalencia de Brucella canis y factores asociados a caninos domésticos (Canis familiaris) en el barrio centro parroquia de Pastocalle* [Universidad Técnica de Cotopaxi].
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5417/6/PC-000406.pdf>
- Baek, B. K., Lim, C. W., Rahman, M. S., Kim, C., Oluoch, A., & Kakoma, I. (2003). Brucella abortus infection in indigenous Korean dogs Résumé Acknowledgments. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 217, 312-314.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC280718/pdf/20031000s00011p312.pdf>
- Barreto, A., Torrens, R., & Barreto, &. (2020). Brucelosis, aspectos que limitan la aproximacion real a esta zoonosis; papel de las cabras. *Rev. prod. anim*, 32(3), 6. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e3536>
- Berrú, V. (2019). *Análisis de la distribución de los perros en abandono en el DMQ en base a una zona de estudio, y directrices para la construcción de políticas y estrategias de protección y manejo*. [Pontificia Universidad Católica del Ecuador].
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/16201/ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS PERROS EN ABANDONO EN EL DMQ EN BASE A UNA ZONA DE ESTUDIO%2C Y DIRECTICES PARA LA CONSTRUCCIÓN DE POLÍTICAS Y ESTRATEGIAS DE PROTECCIÒN Y MANEJO.pdf?sequence=1>
- Bialer, M. (2019). *Interacción de Brucella con el hospedador : adhesión y biogénesis de la envoltura celular* [Universidad de Buenos Aires].
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/83754/CONICET_Digital_Nro.f

112323a-bbf0-401f-8035-d701a4093f46_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Biogal Galed Laboratories Acs Ltd. (2018). *Canine Brucella antibody test kit*.
<http://www.biogal.com/wp-content/uploads/2019/07/63CBR311-1.pdf>

Biogal Galed Labs. (2007). *Product Information*.
<https://www.biogal.com/wp-content/uploads/2019/09/picbr.111207.pdf>

Cadena, G. (2013). *Estudio para la estimación de la población de perros callejeros en Mercados Municipales del Distrito Metropolitano de Quito. DMQ* [Universidad San Francisco de Quito].
<https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2692/1/109108.pdf>

CAR. (2016). Plan de manejo para la especie invasora perro feral (*Canis lupus familiaris*) en la Jurisdicción CAR. *Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca - CAR*, 5-10.
<https://www.car.gov.co/uploads/files/5b7c6e531fc6c.pdf>

Carlosama, M. (2013). *Aislamiento y biotipificación de Brucella spp., de reservorios animales seropositivos, en el centro de faenamiento de Tulcán* [Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2522/1/T-UCE-0014-53.pdf>

Castro, H. A. ., González, S. R. ., & Prat, M. I. (2005). Brucelosis: una revision practica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamerica*, 39(2), 204,205.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539208>

Colman, G., Abenete, A., Cristaldo, L., & Martínez, B. (2017). Seroprevalencia de Brucelosis canina (*Brucella canis*) en la ciudad de Concepción- Paraguay. *Compend. cienc. vet*, 07(01), 43,44.
<https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2017.07.01.41-45>

Colmenero, J. D. (2018). Chronic bacterial infections (II). Brucellosis. *Medicine (Spain)*, 12(53), 3125-3128. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.03.021>

Conto, O. A., & Tipán, D. J. (2018). Evaluación del comportamiento hidráulico de los lixiviados de la fase norte I del relleno sanitario de Cuenca [Universidad del Azuay]. En *Universidad del Azuay*.
<http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/7601>

Cruz, A. (2009). Fauna feral , fauna nociva y zoonosis. *Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Angel. Sección: restauración, conservación y manejo*, 453, 454. http://www.repsa.unam.mx/documentos/Cruz-Reyes_2009_faunas_feral.pdf

De la Maza, M., Leichtle, J., Beltrami, E., Gálvez, N., Hernández, F., Guarda, N., Altamirano, T., & Muñoz, A. (2013). Técnicas de monitoreo de fauna. En M. De la Maza & C. Bonacic (Eds.), *Manual para el Monitoreo de Fauna Silvestre*

en Chile (pp. 67-70). <https://agronomia.uc.cl/extension/manuales/336-manual-para-el-monitoreo-de-fauna-silvestre-en-chile-1/file>

Delgado, C. (2021). *Prevalencia de brucelosis (Brucella spp) en caninos (Canis familiaris), mediante el método de ELISA cuantitativo* [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/21001/1/UPS-CT009256.pdf>

Flores, R. (2010). La situación actual de las zoonosis más frecuentes en el mundo. *Gaceta Médica de México*, 146, 423,424. https://www.anmm.org.mx/GMM/2010/n6/64_vol_146_n6.pdf

Gil, A., & Samartino, L. (2001). Zoonosis en los sistemas de producción animal en las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. *FAO*, 27(2), 12, 13, 23,. https://www.researchgate.net/publication/237340703_Zoonoses_en_los_sistemas_de_produccion_animal_de_las_areas_urbanas_y_periurbanas_de_America_Latina

Giraldo, E. (2014). *Presentación de Brucelosis canina en la práctica de la clínica de pequeños animales del Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile. Estudio de caso* [Universidad Austral de Chile]. http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1140/1/BRUCELOSIS_CANINA_HOSPITAL_VETERINARIO_UACH.pdf

Guzmán, R. L., Contreras, A., Daniel, E., & Rosario, Á. M. (2016). Brucelosis: zoonosis de importancia en México. *Revista Chilena de Infectología*, 33(6), 657,658. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v33n6/art07.pdf>

Haag, A. F., Myka, K. K., Arnold, M. F. F., Caro-hern, P., & Ferguson, G. P. (2010). Importance of Lipopolysaccharide and Cyclic β -1 , 2-Glucans in Brucella - Mammalian Infections. *International Journal of Microbiology*, 2010, 4. <https://doi.org/10.1155/2010/124509>

Hernández, P. (2012). Manual de etología canina. En *Manual de etología canina* (2012.^a ed., Vol. 1). Servet-Grupo Asís Biomedica S.L. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/uaxsp/detail.action?docID=4909026>

Idexx. (2019). *IDEXX Brucellosis Serum 06-04130-16*. idexx.com/contactlpd

IDEXX. (2015). Rose Bengal Brucellosis Antigen Antigène Brucellique Rose Bengale Antigène Rosa Bengala para Brucelose. En *Idexx*. www.idexx.com/production/contact

Jaramillo, C., & Martínez, J. (2010). *Epidemiología veterinaria* (M. Tovar & V. Torres (eds.); 2010.^a ed.).

Leonidas, R., Casagualpa, G., Agustina, M., Macías, V., Adriana, K., & Bravo, C. (2020). Causas , síntomas y tratamiento a los pacientes contagiados por

brucelosis Causes , symptoms and treatment of patients infected with brucellosis Causas , síntomas e tratamiento de pacientes infectados com brucelose. *Revista Científica Mundo de la Investigación y Conocimiento*, 4(4), 384,385. [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(4\).octubre.2020.382-391](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.382-391)

Marín, L. (2019). Conflictos ambientales generados por perros y gatos en estado feral. *Revista Ambiental Éolo*, 13(18), 158,159. <https://bit.ly/3eead69>

Mariño-Jannaut, O. (2000). Brucelosis : metodologías diagnósticas e interpretación de resultados. *Revista MVZ Córdoba*, 5(1), 58,59. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69350112>

Mathew, C., Stokstad, M., Johansen, T. B., Klevar, S., Mdegela, R. H., Mwamengele, G., Michel, P., Escobar, L., Fretin, D., & Godfroid, J. (2015). First isolation, identification, phenotypic and genotypic characterization of *Brucella abortus* biovar 3 from dairy cattle in Tanzania. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 2,3. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0476-8>

Maza, M., & Morales, S. (2016). Seroprevalencia de Brucelosis Canina en el Distrito de Los Olivos , Lima , Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias*, 27(2), 376-379. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11652>
Seroprevalencia

Miceli, G., Pérez, M., Peralta, L., & Mórtoia, E. (2019). Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en perros en contacto con zona rural . Aspectos zoonóticos de la infección. *Analecta Vet*, 39(2), 9,10,11. <https://doi.org/doi.org/10.24215/15142590e0388>

Morales, E., & Morillo, D. (2021). *Evaluación de la técnica de ELISA indirecto OPS para Brucella sp. en muestras de leche y sangre de bovinos y caprinos mediante análisis comparativo con tres métodos diagnósticos*. [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25038/1/UCE-FMVZ-SUB-MORENO JONATHAN.pdf>

Navarro, M. (2017). *Estudio diagnóstico serológico de la brucelosis humana en Estado de Nuevo León* [Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/16887/1/1080226679.pdf>

Núñez, J. (2019). Veterinarios explican cómo la *Brucella* resiste acción del sistema inmune. *Campus*, 1. <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/19007/CAMPUS FEBRERO 2019-9.pdf?sequence=1>

Pérez, L. (2019). *Estudio serológico de brucelosis en caninos del partido de coronel suarez, PCIA. de Buenos Aires* [Universidad Nacional de La Plata]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/85268/Documento_completo

pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Pontón, G. (2021). *Investigaciones serológicas de brucelosis en animales y humanos* [Universidad Técnica de Babahoyo].
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10324/E-UTB-FACIAG-MVZ-000055.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Porras, H. (2019, septiembre 13). *En Cuenca deambulan unos 20.000 perros y gatos callejeros - EntornoInteligente*. <https://www.entornointeligente.com/en-cuenca-deambulan-unos-20-000-perros-y-gatos-callejeros/>
- Ramírez, N. (2018). *Identificación de Brucella spp. en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A)* [UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA].
[https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/4789/IDENTIFICACIÓN DE BRUCELLA SPP. EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENC.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/4789/IDENTIFICACIÓN%20DE%20BRUCELLA%20SPP.%20EN%20ESTUDIANTES%20DE%20MEDICINA%20VETERINARIA%20DE%20LA%20UNIVERSIDAD%20DE%20CIENC.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Reátiga, F. (2015). *Determinación del efecto de perros ferales (Canis lupus familiaris) sobre los mamíferos del Parque Nacional Natural Chingaza, mediante fototrampeo*. [Pontificia Universidad Javeriana].
[https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/17913/ReatigaParri shJuanFelipe2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/17913/ReatigaParri%20shJuanFelipe2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Remache, D. (2019). *Determinación serológica de la presencia de Brucella ovis y Brucella abortus en una manada de ovinos en la hacienda Zuleta* [Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/20197/1/T-UCE-0014-MVE-076.pdf>
- Rojas, A. C., León, M. C., & Bustamante, O. (2016). *Toxocara canis : una zoonosis frecuente a nivel mundial Toxocara canis : A worldwide frequent zoonosis. Revista Ciencia y Agricultura, 13(1), 22.*
https://www.researchgate.net/publication/304573397_Toxocara_canis_una_zoonosis_frecuente_a_nivel_mundial
- Román-Cárdenas, F., & Luna-Herrera, J. (2017). *Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (Brucella abortus , Brucella mellitensis , Brucella suis , Brucella canis) en el Ecuador y el mundo. Centro de Biotecnología, 6, 87,88.* <https://www.researchgate.net/publication/335920884%0ARevisión>
- Salazar, J. (2019). *Prevalencia serologica de brucelosis bovina, mediante la prueba rosa de bengala, en el Distrito de Puente Piedra Provincia de Lima - 2019* [Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8315>

- Santamaría, F. (2018). *Prevalencia de Brucella canis en perros domésticos en el barrio Salache, Provincia de Cotopaxi* [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5224/6/PC-000292.pdf>
- Sbriglio, J. L., Sbriglio, H., & Sainz, S. (2007). Brucelosis Una patología generalmente subdiagnosticada en Humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. *Revista Bianálisis*, 1, 18, 19,. <http://www.revistabioanalisis.com/images/flippingbook/Rev13n/Nota3.pdf>
- Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Echeverría, M., Leardini, N., & Copes, J. (2007). *Microbiología veterinaria* (INTER-Médi (ed.); 1.ª ed.).
- Tarazona, L. (2016). *Formulación de estrategias para el manejo de perros ferales, semi-ferales y domésticos en cinco municipios de la jurisdicción CAR* [Universidad de La Salle]. <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1005&context=biologia>
- Tobar, D. (2019). *Prevalencia de Brucella Canis y factores asociados en caninos domésticos (Canis familiaris) en la comuna San Agustín de Callo* [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6179/6/PC-000531.pdf>
- Tuемmers, C., Lüders, C., Rojas, C., Serri, M., Castillo, C., & Espinoza, R. (2013). Detección de Brucella canis por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. *Revista Chilena de Infectología*, 30(4), 396,398,399. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000400007>
- Vélez, L., Ganad, M. C., Reyes, K. L., Rojas, D., Zoot, L., Calderón-oropeza, M. A., Exp, M. C. B., Cruz-vázquez, J. K., Biol, M. C. I., Arcos-garcía, J. L., & Ganad, D. C. (2014). *Riesgo potencial de parásitos zoonóticos presentes en heces caninas en Puerto Escondido , Oaxaca*. 56(6), 626. <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v56n6/v56n6a12.pdf>
- Weber, M. (2010). Informe Final Proyecto: Perros y gatos ferales en la Reserva de la Biósfera Los Petenes, Campeche: Diagnóstico, efectos en la fauna nativa y perspectivas de control. En *El Colegio de la Frontera Sur unidad Campeche* (Número 1).

UNIVERSIDAD DE CUENCA
 FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
 CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
 FICHA DE CAMPO



Responsable:

Fecha:

Muestra perro	Edad	Raza	Sexo		Observaciones
			Hembra	Macho	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Anexo 2. Recolección de muestras sanguíneas



Animales que fueron atrapados para el estudio



Extracción de la muestra sanguínea

UCUENCA

Anexo 3. Imágenes de las actividades realizadas para identificar *B. canis*.



Temperado de las muestras y el kit



Aplicación del kit



Lectura de los resultados

Anexo 4. Prueba Rosa de Bengala

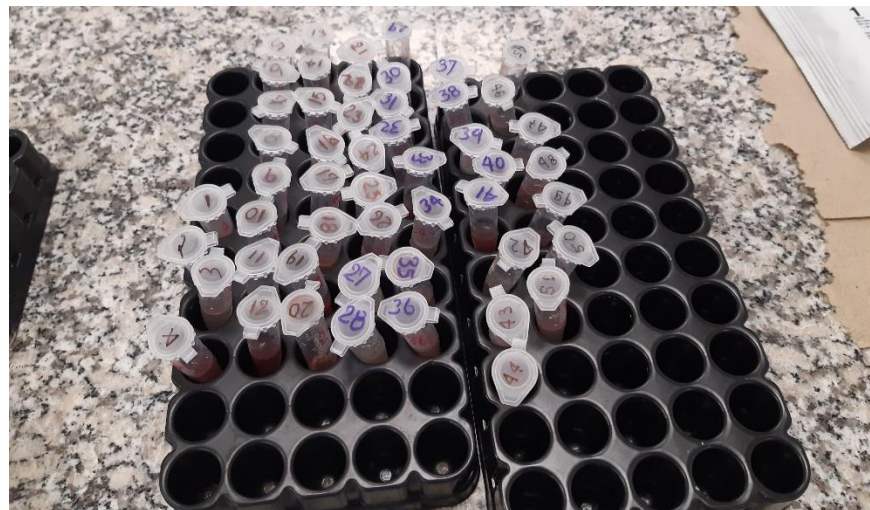
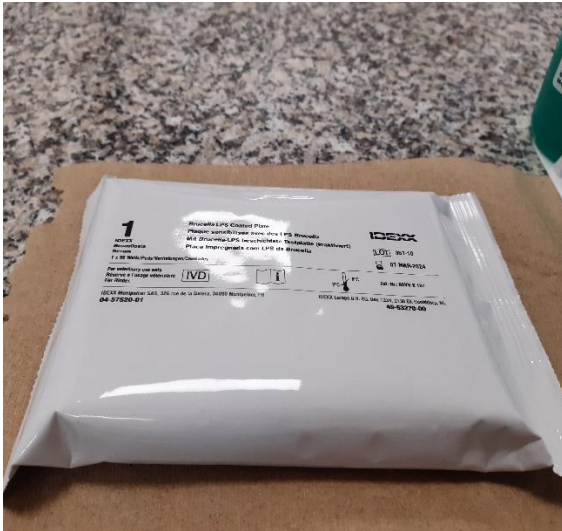


Muestras y reactivo



Observación de aglutinación

Anexo 5. Actividades del ELISA indirecto

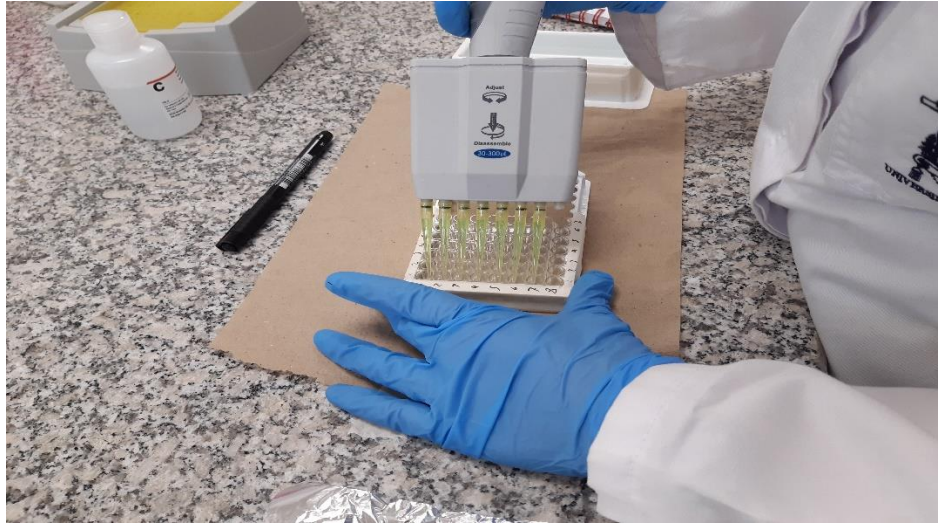


Preparando muestras y reactivos para el análisis de las muestras

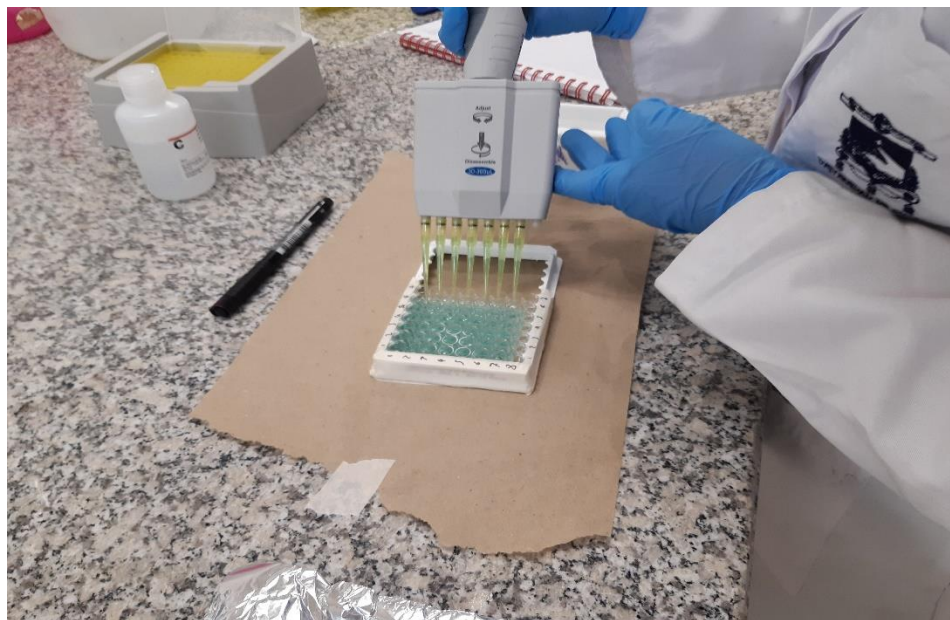
UCUENCA



Solución de lavado, Solución de frenado y conjugado diluido



Desarrollo de la prueba



Desarrollo de la prueba



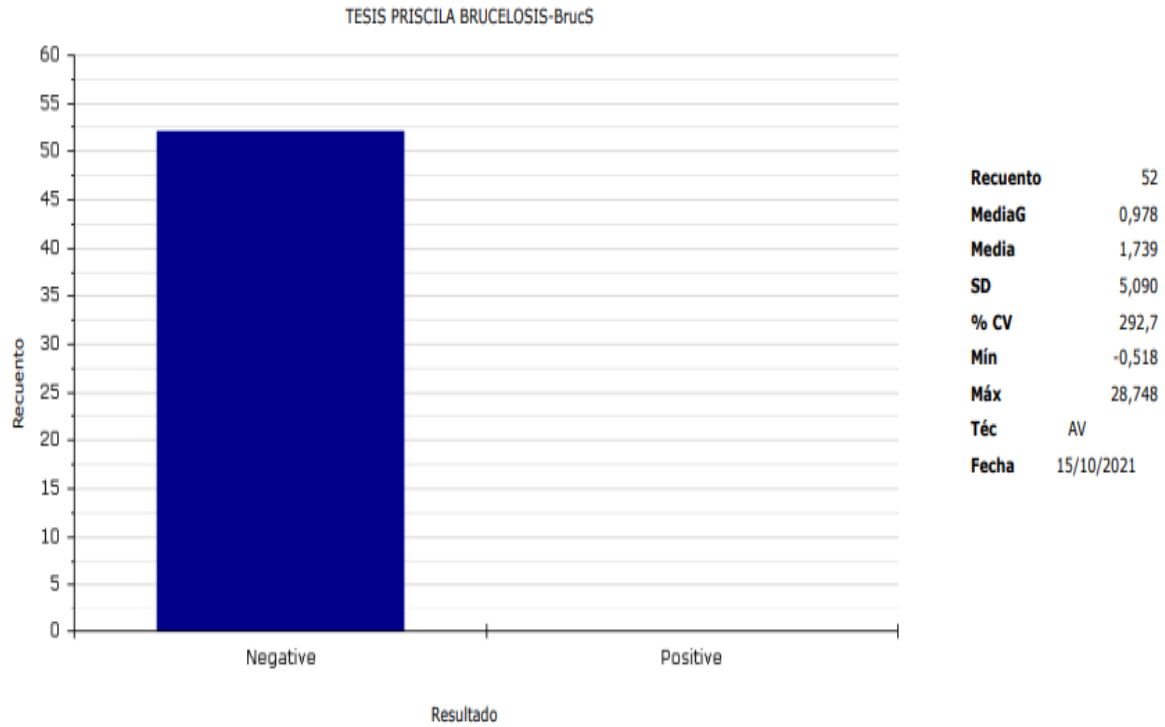
Incubación



Lectura placa ELISA

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092
USA
15/10/2021

Reporte de análisis de casos



Resultados

Caso TESIS PRISCILA BRUCELOSIS - TESIS PRISCILA CAJAMARCA BR

BrucS - 15/10/2021 - AV

	Pocillo	O.D.	% S/P	Resultado
Neg	A1	0,045		
Neg	B1	0,052		
Pos	C1	1,293		
Pos	D1	1,312		
1	E1	0,044	-0,359	Neg
2	F1	0,043	-0,439	Neg
3	G1	0,059	0,837	Neg
4	H1	0,048	-0,040	Neg
5	A2	0,050	0,120	Neg
6	B2	0,047	-0,120	Neg
7	C2	0,049	0,040	Neg
8	D2	0,047	-0,120	Neg
9	E2	0,054	0,439	Neg
10	F2	0,044	-0,359	Neg
11	G2	0,047	-0,120	Neg
12	H2	0,133	6,738	Neg
13	A3	0,409	28,748	Neg
14	B3	0,326	22,129	Neg
15	C3	0,058	0,758	Neg
16	D3	0,048	-0,040	Neg
17	E3	0,043	-0,439	Neg
18	F3	0,044	-0,359	Neg
19	G3	0,051	0,199	Neg
20	H3	0,058	0,758	Neg
21	A4	0,048	-0,040	Neg
22	B4	0,044	-0,359	Neg
23	C4	0,047	-0,120	Neg
24	D4	0,057	0,678	Neg
25	E4	0,058	0,758	Neg
26	F4	0,155	8,493	Neg
27	G4	0,056	0,598	Neg
28	H4	0,045	-0,279	Neg
29	A5	0,050	0,120	Neg
30	B5	0,044	-0,359	Neg
31	C5	0,052	0,279	Neg
32	D5	0,055	0,518	Neg
33	E5	0,084	2,831	Neg
34	F5	0,043	-0,439	Neg

Resultados

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092
USA
15/10/2021

Reporte de análisis de casos

Caso TESIS PRISCILA BRUCELOSIS - TESIS PRISCILA CAJAMARCA BR

BrucS - 15/10/2021 - AV

	Pocillo	O.D.	% S/P	Resultado
35	G5	0,051	0,199	Neg
36	H5	0,050	0,120	Neg
37	A6	0,044	-0,359	Neg
38	B6	0,042	-0,518	Neg
39	C6	0,044	-0,359	Neg
40	D6	0,044	-0,359	Neg
41	E6	0,047	-0,120	Neg
42	F6	0,057	0,678	Neg
43	G6	0,046	-0,199	Neg
44	H6	0,045	-0,279	Neg
45	A7	0,044	-0,359	Neg
46	B7	0,044	-0,359	Neg
47	C7	0,046	-0,199	Neg
48	D7	0,144	7,616	Neg
49	E7	0,168	9,530	Neg
50	F7	0,044	-0,359	Neg
51	G7	0,056	0,598	Neg
52	H7	0,100	4,107	Neg

% S/P

MediaA	1,739
MediaG	0,978
SD	5,090
% CV	292,7
Mín	-0,518
Máx	28,748

Resultados