



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA MENCIÓN CLÍNICA Y CIRUGÍA DE
PEQUEÑAS ESPECIES**

**SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA
CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES
PREDISPONENTES**

AUTOR:

DR. JOSÉ LUIS QUEZADA MONTALVÁN

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

TESIS

TUTOR:

DR. FERNANDO LENIN AGUILAR GÁLVEZ MG. SC.

MACHALA – 2024

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis está dedicada a Dios, quien ha sido mi guía infalible, iluminando mi camino y otorgándome la fortaleza necesaria para perseverar sin desfallecer ante los desafíos que la vida me ha presentado. Su divina presencia me enseñó a enfrentar cada adversidad con integridad y a mantener siempre la dignidad, recordándome constantemente la importancia de no rendirme y de avanzar con determinación.

Dedico también esta obra a mi querida familia, cuyo apoyo ha sido una piedra angular en mi vida. Agradezco profundamente sus consejos, comprensión, amor y paciencia, especialmente en los momentos más difíciles. Su respaldo incondicional me proporcionó no solo los recursos necesarios para continuar con mis estudios, sino también la motivación para seguir adelante. Su presencia constante y su fe inquebrantable en mí me han enseñado el verdadero valor de la perseverancia y el coraje.

Mi familia ha sido fundamental en la formación de mi carácter y mis valores. Cada uno de ustedes ha contribuido a mi crecimiento personal, inculcándome principios sólidos, una ética de trabajo incansable, y una determinación férrea para alcanzar mis metas. Gracias a su ejemplo y apoyo, he aprendido a nunca rendirme y a enfrentar los desafíos con valentía y resolución. Esta tesis es un testimonio de todo lo que soy y todo lo que he logrado, gracias a Dios y a ustedes, mi familia.

José Luis Quezada M.

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, José Luis Quezada Montalván con C.I. 1900839802, declaro que el trabajo de “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES PREDISponentes”, en opción al título de Magister en Medicina Veterinaria Mención Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies, es original y auténtico; cuyo contenido: conceptos, definiciones, datos empíricos, criterios, comentarios y resultados son de mi exclusiva responsabilidad.

JOSÉ LUIS QUEZADA MONTALVÁN

C.I. 1900839802

Machala, 2024/08/12

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES PREDISPONENTES

por José Luis Quezada Montalván

Fecha de entrega: 14-jun-2024 03:27p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2402617011

Nombre del archivo: Tesis_marco_te_rico_-_Jos_Luis_Quezada_M..pdf (83K)

Total de palabras: 6119

Total de caracteres: 33085

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES PREDISPONENTES

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
2	damb-immunoanalisis-1803.blogspot.com Fuente de Internet	1%
3	doku.pub Fuente de Internet	1%
4	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
5	Submitted to ITESM: Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Trabajo del estudiante	<1%
6	Submitted to Submitted on 1686769914713 Trabajo del estudiante	<1%
7	Submitted to Universidad del Desarrollo Trabajo del estudiante	<1%

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 25 words

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Fernando Lenin Aguilar Gálvez, Mg. Sc., con C.I. 0704217348; tutor del trabajo de titulación “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES PREDISPOONENTES”, modalidad Tesis, en opción al título de Magister en Medicina Veterinaria Mención Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies, declaro que el trabajo ha sido revisado, y está enmarcado en los procedimientos científicos, técnicos, metodológicos y administrativos establecidos por la Dirección de Posgrado de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), razón por la cual doy fe de los méritos suficientes para que sea presentado a evaluación.

FERNANDO LENIN AGUILAR GÁLVEZ

C.I. 0704217348

Machala, 2024/08/12

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, José Luis Quezada Montalván con C.I. 1900839802, autor del trabajo de titulación “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS DE LA CABECERA CANTONAL DEL CANTÓN CELICA Y SUS FACTORES PREDISponentes”, en opción al título de Magister en Medicina Veterinaria Mención Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies, declaro bajo juramento que:

- El trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional. En consecuencia, asumo la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.
- Cede a la Universidad Técnica de Machala de forma exclusiva con referencia a la obra en formato digital los derechos de:
 - a. Incorporar la mencionada obra en el repositorio institucional para su demostración a nivel mundial, respetando lo establecido por la Licencia *Creative Commons Attribution-NoCommercial* – Compartir Igual 4.0 Internacional (CC BY NCSA 4.0); la Ley de Propiedad Intelectual del Estado Ecuatoriano y el Reglamento Institucional.
 - b. Adecuarla a cualquier formato o tecnología de uso en INTERNET, así como correspondiéndome como Autor la responsabilidad de velar por dichas adaptaciones con la finalidad de que no se desnaturalice el contenido o sentido de la misma.

JOSÉ LUIS QUEZADA MONTALVÁN

C.I. 1900839802

Machala, 2024/08/12

RESUMEN

La brucelosis canina, una zoonosis significativa, afecta tanto a perros como a humanos, principalmente a través del contacto con fluidos de animales infectados. Esta investigación evalúa la prevalencia de *Brucella canis* en perros de la cabecera cantonal del cantón Celica, utilizando dos técnicas diagnósticas: ELISA y Rosa de Bengala. Con una muestra de 117 perros, se determinó una prevalencia del 14% para *Brucella canis* mediante ELISA y del 0,9% para *Brucella abortus* mediante Rosa de Bengala. El presente estudio tuvo como objetivo Evaluar la prevalencia de brucelosis canina en la cabecera cantonal del cantón Celica a través del uso y comparación de dos técnicas diagnósticas, ELISA y Rosa de Bengala, seleccionando caninos de diferentes tamaños, pesos, razas y en edad reproductiva. La muestra se obtuvo a través de campañas de desparasitación y visitas casa por casa. Se realizaron análisis serológicos con ELISA y Rosa de Bengala para identificar la presencia de anticuerpos. Los resultados mostraron una prevalencia de 14% para *Brucella canis* detectada por ELISA y de 0,9% para *Brucella abortus* detectada por Rosa de Bengala. Las variables de área de vivienda y problemas reproductivos mostraron asociación significativa con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* mediante la técnica de ELISA. No se encontró asociación significativa con otras variables como sexo, edad, raza, estado reproductivo, valores de hematocrito y sólidos totales. La prevalencia de brucelosis canina en la cabecera cantonal del cantón Celica es considerable, especialmente para *Brucella canis*, se identificó la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* en la ciudad de Celica, con una prevalencia del 14% (16/117) según el método de ELISA, destacando la necesidad de vigilancia y control de esta enfermedad en la población canina local. En contraste, la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* fue baja, con solo un caso positivo (0,9% de 117), indicando una transmisión limitada desde su reservorio natural. Estos hallazgos subrayan la importancia de mantener medidas preventivas para proteger tanto a los animales como a los humanos de la infección por *Brucella*. Las áreas rurales y los problemas reproductivos son factores asociados significativamente con la presencia de esta enfermedad. Estos hallazgos destacan la necesidad de implementar medidas de control y prevención en la región para reducir la prevalencia y el riesgo de transmisión a humanos.

PALABRAS CLAVES: Brucelosis, seroprevalencia, *B. canis*, *B. abortus*, ELISA, Rosa de Bengala, zoonosis

ABSTRACT

Canine brucellosis, a significant zoonosis, affects both dogs and humans, primarily through contact with fluids from infected animals. This research evaluates the prevalence of *Brucella canis* in dogs in the cantonal head of Celica canton, using two diagnostic techniques: ELISA and Rose Bengal. With a sample of 117 dogs, a prevalence of 14% for *Brucella canis* was determined using ELISA and 0,9% for *Brucella abortus* using Rose Bengal. The present study aimed to evaluate the prevalence of canine brucellosis in the cantonal head of Celica canton through the use and comparison of two diagnostic techniques, ELISA and Rose Bengal, selecting dogs of different sizes, weights, breeds, and reproductive ages. The sample was obtained through deworming campaigns and house-to-house visits. Serological analyses were performed using ELISA and Rose Bengal to identify the presence of antibodies. The results showed a prevalence of 14% for *Brucella canis* detected by ELISA and 0,9% for *Brucella abortus* detected by Rose Bengal. The variables of living area and reproductive problems showed a significant association with the presence of antibodies against *Brucella canis* using the ELISA technique. No significant association was found with other variables such as sex, age, breed, reproductive status, hematocrit values, and total solids. The prevalence of canine brucellosis in the cantonal head of Celica canton is considerable, especially for *Brucella canis*. The presence of antibodies against *Brucella canis* was identified in the city of Celica, with a prevalence of 14% (16/117) according to the ELISA method, highlighting the need for surveillance and control of this disease in the local canine population. In contrast, the prevalence of antibodies against *Brucella abortus* was low, with only one positive case (0,9% of 117), indicating limited transmission from its natural reservoir. These findings underline the importance of maintaining preventive measures to protect both animals and humans from *Brucella* infection. Rural areas and reproductive problems are significantly associated factors with the presence of this disease. These findings highlight the need to implement control and prevention measures in the region to reduce the prevalence and risk of transmission to humans.

KEYWORDS: Brucellosis, seroprevalence, *B. canis*, *B. abortus*, ELISA, Rose Bengal, zoonosis.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	2
RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA	3
REPORTE DE SIMILITUD URKUND/TURNITIN.....	4
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	7
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	8
RESUMEN	9
ABSTRACT.....	10
ÍNDICE GENERAL	11
LISTA DE ILUSTRACIONES Y TABLAS	14
INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	22
1.1. Brucelosis.....	22
1.2. Brucelosis en caninos	22
1.2.1. Etiología.....	22
1.2.2. Patogénesis.....	23
1.2.3. Vida intracelular de la <i>Brucella</i>	23
1.2.4. <i>Brucella canis</i> y su diferencia con otras especies de <i>Brucella</i> han sido objeto de estudio	24
1.2.5. Epidemiología.....	24
1.2.6. Transmisión en caninos	25
1.2.7. Signos clínicos en caninos	25
1.2.8. Signos clínicos específicos en machos	26
1.2.9. Signos clínicos específicos en hembras	26
1.2.10. Signos clínicos en humanos	27
1.2.11. Personas en riesgo de contagio	28
1.2.12. Reacción del sistema inmunológico.....	29
1.3. Diagnóstico de la enfermedad.....	29
1.3.1. Exploración física y pruebas de laboratorio	29

1.3.2.	Hemocultivo.....	30
1.3.3.	Serología	30
1.3.4.	Prueba de aglutinación rápida en portaobjetos	31
1.3.5.	ELISA	32
1.3.6.	Tipos de ELISA	32
1.3.7.	Rosa de bengala	33
1.3.8.	Prueba rápida de aglutinación en portaobjetos modificada	33
1.3.9.	Inmunocromatografía.....	34
1.3.10.	Prueba de inmunodifusión en gel de agar	34
1.3.11.	PCR	35
1.4.	Abordaje médico para manejar la enfermedad.....	35
1.5.	Prevención.....	36
1.6.	<i>Brucella abortus</i> en caninos.....	37
1.7.	Tipos de especies de <i>Brucella</i> y su diferenciación.....	38
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA		39
2.1.	Tipo de estudio.....	39
2.2.	Paradigma.....	39
2.3.	Ubicación	39
2.4.	Selección	40
2.5.	Población y muestra	40
2.5.1.	Población	40
2.5.2.	Muestra	40
2.5.3.	Criterios de Exclusión e Inclusión	40
2.5.4.	Variables	41
2.6.	Materiales.....	41
2.6.1.	Materiales de campo	41
2.6.2.	Materiales y reactivos de laboratorio.....	42

2.7. Técnicas.....	42
2.7.1. Recolección de datos de los caninos.....	43
2.7.2. Metodología de campo.....	43
2.7.3. Metodología de laboratorio.....	44
2.8. Estadística	47
2.9. Aspectos éticos.....	47
CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....	48
3.1. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la técnica de ELISA	48
3.2. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la técnica de Rosa de Bengala.....	49
3.3. Factores asociados a la presencia de anticuerpos de <i>Brucella canis</i> , técnica de ELISA.	49
3.4. Factores asociados a la presencia de anticuerpos de <i>Brucella abortus</i> , técnica Rosa de Bengala.....	52
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES.....	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	84

LISTA DE ILUSTRACIONES Y TABLAS

Índice de tablas

Tabla 1. Interpretación prueba de Elisa	46
Tabla 2. <i>B. canis</i> mediante técnica de ELISA	48
Tabla 3. <i>B. abortus</i> mediante técnica de Rosa de Bengala	49
Tabla 4. Características asociadas a <i>B. canis</i> , técnica de ELISA	52
Tabla 5. Características asociadas a <i>Brucella abortus</i> , técnica Rosa de Bengala.....	54

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Cabecera cantonal del cantón Celica.....	39
Ilustración 2. Control(A) y muestra positiva(B)	45

Índice de gráficos

Gráfico 1. <i>B. canis</i> mediante técnica de ELISA	48
Gráfico 2. <i>B. abortus</i> mediante técnica de Rosa de Bengala	49

Índice de anexos

Anexo 1: Examen físico (toma de constantes)	84
Anexo 2: Examen físico (revisión de mucosas)	84
Anexo 3: Venopunción.....	84
Anexo 4: Toma de muestra de sangre	84
Anexo 5: Visita casa a casa para la obtención de muestras sanguíneas	85
Anexo 6: Dueños de caninos que accedieron a proporcionar datos para llenar la ficha epidemiológica.....	85
Anexo 7: Recolección de muestras sanguíneas	85
Anexo 8: Muestras en el laboratorio para extracción de suero	85
Anexo 9: Validación del kit.....	86
Anexo 10: Extracción de suero e identificación de muestras.....	86
Anexo 11: Muestras de suero identificadas.....	86

Anexo 12: Kit ELISA.....	86
Anexo 13: Reactivo Rosa de Bengala	86
Anexo 14: Procesamiento de muestras.....	87
Anexo 15: Procesamiento de muestras mediante Rosa de Bengala	87
Anexo 16: Ficha epidemiológica.....	88
Anexo 17: Historia clínica.....	89
Anexo 18: Consentimiento informado para tomar las muestras de sangre a los caninos	90
Anexo 19: Matriz de data	91

INTRODUCCIÓN

La brucelosis canina es una enfermedad distribuida mundialmente y se puede transmitir al hombre, en 1966 fue detectada por primera vez esta bacteria al realizar investigaciones de abortos y problemas reproductivos en un criadero de perros en los Estados Unidos de Norteamérica (1). La brucelosis ha estado presente en América Latina desde la primera década del siglo XX y continúa siendo una zoonosis significativa hasta el día de hoy, a pesar de los esfuerzos de las campañas de control, la efectividad de los programas de control a menudo se ve comprometida por la falta de financiación sostenida a lo largo del tiempo (2). La brucelosis canina constituye la causa más común de fallos reproductivos en perros (3).

Es una enfermedad frecuente en el medio, subdiagnosticada ya que rara vez o nunca se realizan pruebas específicas para detectarla en la clínica diaria. Por lo tanto, se clasifica como una zoonosis de naturaleza ocupacional, que se manifiesta en humanos con síntomas como fiebre, dolores musculares, dolor de cabeza, dermatitis, inflamación de los ganglios linfáticos y, ocasionalmente, poliartritis (4). Sin embargo, a pesar de ser zoonótica, la infección por *B. canis* es menos reconocida como tal (5).

Aunque esta enfermedad puede afectar a varios animales, como bovinos, ovinos, la brucelosis en perros es menos común y ha recibido menos atención en términos de investigación (6). En los perros, la brucelosis canina se presenta con episodios de abortos, problemas reproductivos, inflamación de los ganglios linfáticos y ocasionalmente afecta al sistema óseo y articular, aunque también es común encontrar infecciones asintomáticas en perros, en los seres humanos, esta enfermedad se presenta con cuadros de fiebre, generalmente con síntomas inespecíficos como agrandamiento del bazo, fatiga y debilidad (7). La infección en los perros se produce principalmente por vía oral o nasal al entrar en contacto con tejidos contaminados como fetos abortados, semen, orina y secreciones vaginales (8,9).

En humanos, el contacto con fluidos de perros infectados es fuente de infección y representa un riesgo ocupacional para veterinarios, criadores, trabajadores de laboratorio y otros profesionales que tienen contacto con animales infectados o muestras biológicas, el diagnóstico en perros se basa principalmente en pruebas serológicas, en los últimos años, se ha utilizado cada vez más el diagnóstico molecular, el tratamiento de los perros infectados conlleva una alta tasa de recaídas por lo que solo debe aplicarse en casos

selectos, actualmente no existen vacunas comerciales para prevenir la brucelosis canina lo que hace necesario desarrollar nuevos y mejores métodos de diagnóstico, así como protocolos de vacunación eficaces y seguros para controlar de manera efectiva la brucelosis canina y el riesgo de transmisión a los humanos (7).

El tratamiento adecuado es la identificación temprana de los animales afectados, se debe evitar su reproducción y debe realizarse castración u esterilización según sea el caso, esta enfermedad es causa de pérdidas tanto reproductivas como económicas en criaderos y sumado a esto está el impacto en la salud pública debido a su carácter zoonótico (10). La *Brucella* se está volviendo cada vez más reconocida como una causa de problemas reproductivos en perros y representa una amenaza para los criadores de perros, en las últimas décadas se ha comprendido mejor el peligro de la brucelosis grave tanto en los perros como en las personas que los tienen y trabajan con ellos (11).

Esta investigación de maestría se concentra en abordar el problema de la brucelosis canina, destacando la prevalencia de *Brucella canis* mediante el empleo de técnicas de ELISA y la prueba de Rosa de Bengala. El objetivo fue determinar la frecuencia de la infección en diversas poblaciones caninas, así como también evaluar la eficacia de estas técnicas como herramientas diagnósticas. Este estudio se enfoca en enriquecer la comprensión global de la brucelosis canina, con el propósito de facilitar la implementación de estrategias de control y prevención que estén fundamentadas en evidencia y sean efectivas.

La realización del primer estudio sobre brucelosis canina en el cantón Celica marca un hito significativo en la comprensión y el manejo de esta enfermedad en la región. Este estudio proporciona información crucial sobre la presencia de *Brucella spp.* en los perros de la zona, lo que antes no había sido documentado. La importancia de este estudio radica en su capacidad para identificar la presencia de una enfermedad zoonótica potencialmente peligrosa, que no solo afecta a los perros, sino que también puede representar un riesgo para la salud humana.

PROBLEMÁTICA

La brucelosis canina no solo representa un riesgo para los perros, sino que también plantea serias preocupaciones para la salud pública debido a su potencial transmisión a los humanos. La falta de datos precisos sobre la prevalencia de *Brucella canis* en diversas poblaciones caninas complica la formulación de estrategias efectivas para prevenir su propagación a los seres humanos.

En el ámbito de la cría y reproducción canina, la presencia de *Brucella canis* puede tener consecuencias devastadoras, afectando la salud reproductiva de los animales y ocasionando pérdidas económicas considerables para los criadores. Evaluar la prevalencia de esta enfermedad es fundamental para implementar medidas adecuadas de control y gestión en criaderos y refugios.

Aunque existen métodos de diagnóstico para la brucelosis canina, la precisión y sensibilidad de estas pruebas pueden variar. Aunque técnicas como ELISA y la prueba de Rosa de Bengala han demostrado ser prometedoras, se requiere investigación adicional para validar su eficacia en diferentes contextos y poblaciones caninas.

Es importante tener en cuenta que la prevalencia de enfermedades infecciosas puede variar considerablemente según la ubicación geográfica y las características específicas de la población canina. Por lo tanto, esta investigación abordará la necesidad de obtener datos específicos que reflejen la realidad del cantón Celica.

JUSTIFICACIÓN

Las cepas de *Brucella* son las causantes de la brucelosis, una enfermedad zoonótica ampliamente difundida a nivel mundial, la cual puede inducir abortos en animales domésticos y una infección con posibles efectos debilitantes en los seres humanos (12). La brucelosis canina ha sido documentada a nivel global, siendo común en América, Asia y África, donde investigaciones serológicas en varios países han revelado una tasa de seropositividad que varía del 1% al 28% (13). La brucelosis en perros generalmente se atribuye a la presencia de la bacteria *B. canis*; sin embargo, se ha documentado que la *B. abortus*, típicamente asociada con el ganado infectado, también puede encontrarse en perros, tanto en estudios experimentales como en entornos naturales (14).

Actualmente la brucelosis canina es una enfermedad subdiagnosticada en el cantón Celica ya que no se realizan pruebas o algún tipo de test para confirmarla o descartarla, la brucelosis canina es causante de pérdidas económicas en criaderos y representa un riesgo para la salud.

Por tal motivo se ha considerado la necesidad de utilizar un método que pueda ayudar a determinar la existencia o no de la enfermedad en el en la cabecera cantonal del cantón Celica con el fin de evitar esta enfermedad que puede afectar a la salud animal y humana ya que la brucelosis canina es de carácter zoonótico que la convierte en un problema de salud pública.

A pesar de la importancia de la brucelosis canina como una enfermedad zoonótica de preocupación tanto para la salud animal como para la humana, no existen estudios previos en el cantón Celica que aborden esta problemática.

Esta falta de información representa una oportunidad para contribuir al conocimiento científico en un área poco explorada. La brucelosis canina puede tener un impacto significativo en la salud de los perros y en la comunidad en general, al llevar a cabo un estudio en el cantón Celica, se proporcionará información específica y relevante para esta región en particular, lo que permitirá comprender mejor la situación epidemiológica y diseñar estrategias de prevención y control adecuadas.

En Ecuador en los últimos años ha aumentado el interés de las personas por tener mascotas así mismo el número de perros callejeros y de igual manera hay infinidad de centros de rescate de perros que dan a estos caninos en adopción, en los cuales la mayoría

desconocen esta enfermedad y no se realiza ningún tipo de control respecto a la misma, convirtiéndolos en focos de contagio, allí la importancia de realizar este tipo de estudio encaminados a detectar esta enfermedad y así poder prevenirla y al mismo tiempo garantizar la salud no solo para perros sino también de las personas.

Dada la naturaleza zoonótica de la brucelosis canina, la falta de conocimiento sobre su presencia en el cantón Celica podría representar un riesgo para la salud pública. Identificar la prevalencia de la enfermedad en la población canina local es crucial para prevenir la transmisión a los humanos y tomar medidas preventivas apropiadas. La realización de un estudio sobre brucelosis canina en el cantón Celica proporcionará datos importantes para las autoridades locales de salud y veterinaria, así como para los propietarios de mascotas y ganaderos. Esta información ayudará a mejorar las prácticas de manejo animal, proteger la salud de los perros y prevenir pérdidas económicas en la industria ganadera.

HIPÓTESIS

H1: Hay presencia de brucelosis canina en caninos de la cabecera cantonal del cantón Celica.

HO: No hay presencia de brucelosis canina en caninos de la cabecera cantonal del cantón Celica.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la prevalencia de brucelosis canina en la cabecera cantonal del cantón Celica a través del uso y comparación de dos técnicas diagnósticas, ELISA y Rosa de Bengala.

Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de brucelosis canina mediante ELISA indirecta.
- Determinar la prevalencia de brucelosis canina en las mismas muestras mediante rosa de bengala.
- Establecer una relación entre las variables de edad, raza y sexo de los animales examinados y la presencia de la enfermedad.

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1. Brucelosis

La Brucelosis canina es una enfermedad bacteriana de origen zoonótico y con presencia global. Se clasifica como una enfermedad infecciosa y transmisible, que se desarrolla de manera subaguda o crónica. Se caracteriza por una prolongada presencia de bacterias en la sangre, manifestándose clínicamente o de forma subclínica, los sistemas principalmente afectados son el músculo esquelético y reproductivo, es la principal causa de aborto infeccioso en poblaciones de perros, siendo la bacteria responsable de esta enfermedad la *Brucella canis* (15).

La brucelosis es una enfermedad infecciosa de origen bacteriano que la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica como una condición relacionada principalmente con la salud ocupacional y enfermedades profesionales que deben ser obligatoriamente reportadas (16).

Al referirnos a la zoonosis, el aspecto más importante de esta enfermedad es el peligro evidente que representa para los profesionales veterinarios, criadores de perros y quienes trabajan en refugios caninos, se presta poca atención al riesgo de transmisión a través de perros destinados a la adopción, aunque la *B. canis* tiene una baja incidencia de zoonosis en comparación con otras especies del mismo género, se ha demostrado que el contacto cercano con perros infectados aumenta el riesgo de contagio, especialmente en personas con sistemas inmunológicos debilitados, niños y personas de edad avanzada (17).

1.2. Brucelosis en caninos

1.2.1. Etiología

Brucella canis es el microorganismo responsable de la brucelosis canina, se trata de un cocobacilo gramnegativo que tiene la capacidad de vivir dentro de las células y tiene un origen zoonótico, lo que significa que puede transmitirse de animales a humanos (18). Este microorganismo es aerobio, no se mueve activamente y no posee una cápsula (19). Se distingue de otras especies de *Brucella* por su nivel de patogenicidad y su preferencia por ciertos huéspedes, siendo los perros los más afectados, aunque ocasionalmente puede afectar a seres humanos y cánidos salvajes (18).

1.2.2. Patogénesis

La bacteria ingresa al organismo a través del revestimiento de las mucosas, principalmente en el tracto reproductivo, ya sea mediante transmisión sexual o reproductiva, o mediante la ingestión oral. Una vez dentro, se desplazan como bacterias independientes o dentro de células fagocíticas hacia los ganglios linfáticos cercanos (20).

La invasión de los ganglios linfáticos regionales resulta en el aumento de tamaño de los ganglios, el crecimiento excesivo del tejido linfático y del tejido reticuloendotelial, lo cual ocasiona inflamación. Si las bacterias no son capturadas y eliminadas por las células fagocíticas, se reproducen y se propagan a través de la circulación sanguínea y, especialmente, a través de los vasos linfáticos, acumulándose en los órganos reproductores, la continua proliferación de la bacteria *B. canis* en el revestimiento del útero, los testículos, el tejido mamario, así como en los ganglios linfáticos y el bazo, resulta en problemas reproductivos y una enfermedad febril recurrente e inespecífica (19).

1.2.3. Vida intracelular de la *Brucella*

La bacteriemia causada por *B. canis* es de breve duración, ya que es rápidamente capturada por las células fagocíticas del organismo hospedador, las variedades suaves de *Brucella spp.* requieren la ayuda del citoesqueleto de actina de las células del huésped para ingresar a su interior, normalmente *B. canis* se presenta como una variedad rugosa (21).

Sin embargo, la fagocitosis ocurre de manera similar en los monocitos y macrófagos, para que *Brucella spp.* de tipo salvaje pueda replicarse dentro de las células, se requiere un pH intracelular bajo (<4,5), la presencia de un pH bajo estimula la activación del operón VirB, el cual regula la expresión de genes relacionados con un sistema de secreción denominado tipo IV (22).

El LPS O-polisacárido de *Brucella spp.* se percibe como una molécula fundamental para la conexión con las balsas lipídicas y el proceso de internalización (23). El polisacárido O-LPS impide la destrucción bacteriana a través del complemento y detiene la muerte programada de las células del organismo huésped, lo que favorece la supervivencia de las bacterias (20).

1.2.4. *Brucella canis* y su diferencia con otras especies de *Brucella* han sido objeto de estudio

La primera identificación y aislamiento de *B. canis* tuvo lugar en Estados Unidos a partir de perros de raza Beagle en el año de 1966 (24). La mayoría de las bacterias *Brucella spp.* exhiben una apariencia lisa en su colonia debido a la presencia del LPS en su membrana capsular externa, sin embargo, *Brucella canis* no presenta la expresión de la cadena lateral polisacárida "O" mucoide del LPS, lo cual es responsable de la textura rugosa que se observa en el cultivo, a pesar de esto, *Brucella canis* posee otros factores de virulencia que contribuyen a su capacidad de afectar a las células huésped y causar la enfermedad (25).

Los ligandos, generalmente enmascarados por la cadena lateral "O", se vuelven visibles al ser expuestos, lo que favorece la unión a los macrófagos, *B. canis* ingresa al interior de las células a través de la interacción del LPS con los receptores Toll-like 4, o mediante el reconocimiento del receptor de manosa en la superficie bacteriana (26,27).

La producción de interferón- γ es esencial para mantener la infección crónica de *Brucella*, ya que es desencadenada por el reconocimiento de elementos de la pared celular bacteriana, estos elementos interactúan con receptores Toll-like, lo que activa la señalización dentro de las células y provoca la generación de interleucina-12 y factor de necrosis tumoral- α por parte de monocitos y macrófagos (28). Varios estudios de transferencia pasiva han demostrado que los anticuerpos obtenidos de perros recuperados tienen una función limitada en la protección de perros no infectados (28).

1.2.5. Epidemiología

La bacteria *Brucella canis* ha sido encontrada en todo el mundo, y en América del Sur es especialmente prevalente, en países como Chile, se ha informado de una prevalencia del 8%, mientras que en Colombia es del 2,76% y en Perú del 3,3%. Estos datos se obtuvieron a partir de estudios realizados en diversos barrios de diferentes ciudades, así como en clínicas veterinarias y albergues de perros, para detectar la presencia de anticuerpos y antígenos de esta enfermedad se utilizan principalmente pruebas como la inmunocromatografía, la PCR y el hemocultivo (29).

La forma rugosa constante de la *B. canis* resulta en una baja virulencia, lo que lleva a que muchos animales infectados muestren síntomas leves o sean asintomáticos, esta situación

representa un grave desafío para la salud pública a nivel global, ya que el abandono de animales ha aumentado considerablemente, generando la formación de colonias de perros callejeros que deambulan sin control sanitario (30).

Las perras pueden interrumpir su embarazo alrededor de los 45-55 días de gestación, en ocasiones, el aborto puede ocurrir de forma temprana, con la expulsión y reabsorción del feto, lo que puede pasar desapercibido para los dueños y como resultado podrían no tomar precauciones al manipular a sus mascotas y sus desechos (17).

1.2.6. Transmisión en caninos

Hay dos formas de transmisión vertical y horizontal, la transmisión vertical ocurre en perras preñadas, donde las crías se infectan a través del útero o durante la lactancia, por otro lado, la transmisión horizontal ocurre cuando las perras infectadas han abortado, y también puede ocurrir a través de secreciones vaginales o el semen de perros contagiados (31).

1.2.7. Signos clínicos en caninos

Al principio de la enfermedad, los síntomas generales no específicos de la infección causada por *Brucella canis* pueden manifestarse como falta de energía, alopecia, cansancio, pérdida de peso, dificultad para realizar ejercicio y aumento de los ganglios linfáticos (8,19,32). A medida que avanza la infección causada por el *Brucella canis*, es posible que se presenten síntomas como agrandamiento del bazo y episodios recurrentes de inflamación en el ojo (uveítis), además, es posible que se presenten problemas ortopédicos, como cojera, debilidad muscular, dolor en la columna vertebral y alteraciones neurológicas, que pueden estar relacionados con la compresión de la médula espinal (8,19).

Estos síntomas clínicos se asocian con la osteomielitis vertebral y la discoespondilitis (infección del disco vertebral), los profesionales veterinarios deben considerar siempre la presencia de *B. canis* como una posible causa en casos de inflamación ocular (uveítis), así como en cojeras o dolor en la columna vertebral, especialmente en perros no castrados, la enfermedad espinal es más común en perros machos, ya que la próstata puede actuar como un reservorio de *B. canis*, lo que favorece episodios intermitentes de bacteriemia (24).

Las lesiones radiográficas pueden incluir arquitectura vertebral no afectada con lesiones inflamatorias focales o multifocales que afectan el disco intervertebral. Aunque estos signos no específicos son presentaciones menos comunes, *B. canis* siempre debe estar en la lista diferencial para cualquier perro intacto (11).

1.2.8. Signos clínicos específicos en machos

Los signos clínicos observados en los perros sementales son principalmente testiculares. La epididimitis aguda y la prostatitis son más comunes, mientras que la orquitis es menos frecuente (19,24,32).

Al principio, se presenta una dermatitis escrotal húmeda como resultado del lamido, la cual puede progresar hacia una reducción permanente de tamaño en los testículos. La atrofia testicular permanente puede ser causada por cualquier enfermedad testicular y puede dar lugar a alteraciones en los espermatozoides, como aglutinación, anomalías espermáticas y la presencia de células inflamatorias (8,9,32).

La infertilidad es otro síntoma que puede presentarse en casos de *B. canis*, y se puede observar una historia de infertilidad documentada a través de una serie de intentos fallidos de apareamiento con diferentes hembras probadas, en su lugar, el macho puede exhibir anomalías en los testículos o en el escroto que pueden ser detectadas durante un examen físico o ecográfico. Un análisis del semen puede proporcionar pistas cruciales, como la aglutinación de espermatozoides, colas dobladas, colas dobles, partes medias hinchadas, retención de gotas protoplasmáticas y deformación de los acrosomas (8,9).

La eyaculación puede presentar una cantidad anormalmente alta de glóbulos blancos, diagnosticar y obtener historias clínicas precisas en casos de infertilidad puede resultar complicado, es importante tener en cuenta que los machos infectados pueden transmitir la enfermedad tanto a otros perros como a seres humanos, por lo tanto, es necesario tener precaución y reducir la exposición al semental hasta que se determine la causa de la infertilidad. Incluso si se considera bajo el riesgo de infección, las pruebas de *B. canis* deben incluirse en cualquier evaluación de infertilidad (11).

1.2.9. Signos clínicos específicos en hembras

El aborto tardío, que ocurre entre los días 45 y 59 de la gestación, es la forma más frecuente de presentación de *B. canis* en la perra (9,32).

Es importante evaluar las posibles causas bacterianas, virales, fúngicas, genéticas y traumáticas en cualquier hembra reproductora que experimente un aborto tardío, sin embargo, si el aborto ocurre entre los días 45 y 59, es necesario descartar la presencia de brucelosis canina, la brucelosis canina puede manifestarse a través de fetos abortados que muestran signos de autólisis parcial, como edema subcutáneo, hemorragia y congestión, además, las perras que sufren un aborto pueden presentar una secreción vaginal oscura y maloliente que puede durar entre 1 y 6 semanas después del aborto (9). Las perras pueden experimentar una cronología de infertilidad persistente o interrupciones del embarazo, seguidas de múltiples camadas exitosas, solo para enfrentar nuevamente dificultades de fertilidad o aborto (8).

Es importante tener en cuenta que la perra tiene la capacidad de transmitir la enfermedad a otros perros y seres humanos, por lo tanto, es necesario reducir al mínimo la exposición hasta que se confirme la causa de la infertilidad, al igual que con los perros machos las pruebas de *B. canis* son obligatorias para cualquier investigación de infertilidad, incluso en situaciones de bajo riesgo (11).

1.2.10. Signos clínicos en humanos

Los médicos pueden tener dificultades para identificar los síntomas de la infección por *B. canis* debido a su baja prevalencia en personas sanas. Los signos son vagos y similares a los de la gripe, como dolor de cabeza, dolor de espalda, escalofríos y sudores nocturnos, fiebre que aparece y desaparece en forma ondulante, y sensación de debilidad o malestar general (19,32).

Es común que se confunda su diagnóstico con otras enfermedades, lo cual puede llevar a errores, en situaciones más severas se presentan síntomas adicionales como inflamación de las articulaciones (poliartritis), inflamación de las membranas que cubren el cerebro y la médula espinal (meningitis), inflamación del revestimiento interno del corazón (endocarditis), agrandamiento del hígado (hepatomegalia) y agrandamiento del bazo (esplenomegalia), la presencia de inflamación de los ganglios linfáticos periféricos se identifica con frecuencia en relación a la infección por *B. canis* (19,32).

Sin embargo, existe la posibilidad de que los humanos puedan contraer *B. canis* a través de las secreciones, aunque esta zoonosis es menos evidente para el personal de salud, las personas que tienen sistemas inmunológicos debilitados, como los niños pequeños, las

mujeres embarazadas, los pacientes con cáncer y trasplantes, y aquellos que viven con el VIH, tienen un mayor riesgo de infección zoonótica (9).

El factor primordial es el registro de haber estado expuesto a un perro, posiblemente con una enfermedad reproductiva, sin embargo, con frecuencia estas interrogantes no se plantean durante un chequeo físico de rutina, como se mencionó previamente los perros infectados suelen estar aparentemente sanos desde el punto de vista clínico (32).

La falta de conocimiento de los médicos acerca de la brucelosis dificulta la identificación de la infección causada por *B. canis* en pacientes humanos, además, para diagnosticar ciertos casos en humanos pueden ser requeridas pruebas de antígenos específicos de *B. canis* ya que los anticuerpos contra esta bacteria no presentan reactividad cruzada con la serología estándar de *B. abortus* utilizada en medicina humana (33).

1.2.11. Personas en riesgo de contagio

Debido a la frecuente interacción con perros enfermos, los veterinarios, criadores de perros y personas dedicadas a cuidar caninos se encuentran en mayor riesgo de verse expuestos a *B. canis* (24).

El contagio ocurre al entrar en contacto directo con perros infectados o al estar expuesto a productos animales infectados, como material abortado, líquido seminal, secreción vaginal y orina, los perros reproductores que se adquieren recientemente pueden tener antecedentes médicos desconocidos lo que podría resultar en la introducción de la bacteria en la perrera, muchas perrerías y criadores de perros adoptan un enfoque mínimo en cuanto a la cuarentena de los nuevos reproductores, la carga bacteriana más alta se encuentra en los productos fetales y en el flujo vaginal de la perra después de un aborto (24).

La propagación de la enfermedad se ve favorecida cuando se tiene contacto o se consume accidentalmente este material, especialmente en grupos vulnerables como criadores y veterinarios, los dueños de mascotas también corren un mayor riesgo de exposición a la bacteria *B. canis* al adoptar un perro potencialmente infectado, incluso si el perro ha sido esterilizado o castrado aún puede eliminar la bacteria a través de sus secreciones y orina (24).

Las personas en estado de gestación, los menores y aquellos con sistemas inmunológicos debilitados tienen un mayor peligro de contraer enfermedades transmitidas por animales debido a la reducción de sus defensas inmunitarias, por ende, es recomendable que eviten

el contacto con perros que se consideren de "alto riesgo" o se sospeche que estén infectados con *B. canis*, es fundamental mantener una buena higiene, incluyendo la frecuente limpieza de las manos, especialmente después de manipular mascotas (11).

1.2.12. Reacción del sistema inmunológico

La respuesta inmunológica ocurre mediante la participación de células, con los macrófagos activándose, estos macrófagos varían según la edad, nutrición previa, antibioterapia y la inmunidad del individuo, los anticuerpos circulantes también desempeñan un papel en la respuesta inmune, aunque existe poca relación entre los niveles de anticuerpos y el grado de resistencia (34,35).

Después de la infección, se incrementan los niveles de IgM (detectable en las primeras semanas después de la infección, pero disminuye a los 3 meses), mientras que la IgG empieza a aumentar en la segunda semana de enfermedad y se mantiene durante al menos un año en pacientes no tratados, disminuyendo a los seis meses en caso de recibir tratamiento, si hay un aumento persistente, se atribuye a la presencia de microorganismos intracelulares viables en el tejido reticuloendotelial o a focos de infección, los anticuerpos se vuelven detectables aproximadamente dos semanas después de la infección (34,35).

1.3. Diagnóstico de la enfermedad

Es poco probable diagnosticar la brucelosis canina únicamente a través de la historia clínica; se necesitan pruebas adicionales para confirmar la sospecha de infección, no todos los signos clínicos son indicativos de *B. canis*, y la infertilidad puede ser el único síntoma en perras o sementales, los veterinarios que atienden a perros reproductivamente activos pueden sospechar o detectar esta enfermedad durante los exámenes y pruebas previas a la cría de perras y sementales, se recomienda realizar pruebas de *B. canis* cada tres meses en perros que se dediquen a la reproducción (8).

1.3.1. Exploración física y pruebas de laboratorio

Es fundamental llevar a cabo un examen físico exhaustivo en todos los casos relacionados con exámenes previos a la reproducción o cualquier problema relacionado con la capacidad reproductiva, en la mayoría de los casos, los resultados del examen físico no revelan ninguna particularidad, pero en ocasiones se pueden detectar anomalías asociadas a la infección por *B. canis*, como linfadenopatía, uveítis, dolor de espalda, flujo vaginal, dermatitis escrotal o alteraciones testiculares (11).

Se recomienda realizar un hemograma completo, análisis de bioquímica sérica y análisis de orina para evaluar el funcionamiento de los órganos y contribuir a la evaluación del estado general de salud, no se han observado anomalías habituales en los análisis de sangre o de orina que estén directamente relacionadas con la infección por *B. canis* o que la predigan específicamente (11).

1.3.2. Hemocultivo

El hemocultivo es reconocido como el método más eficaz para diagnosticar la infección temprana causada por *B. canis* en perros que no han sido tratados con antimicrobianos (8).

Más de la mitad de los perros permanecen bacterémicos durante al menos un año después de la infección, y generalmente la bacteriemia desaparece alrededor de dos semanas después del contagio, se requiere obtener un conjunto de tres muestras de hemocultivo sucesivas, con un espacio mínimo de 24 horas entre cada una (9). El proceso de cultivo lleva aproximadamente nueve días para que ocurra el desarrollo, lo cual incrementa la posibilidad de que el personal de laboratorio se exponga a agentes patógenos (24).

No se puede descartar la infección por *B. canis* basándose únicamente en la ausencia de bacterias en la sangre, ya que un resultado negativo en el cultivo no asegura que no estén presentes (8).

1.3.3. Serología

La serología se refiere a los análisis serológicos para detectar *B. canis*, los cuales emplean una técnica de aglutinación que involucra la interacción de anticuerpos caninos específicos de *B. canis* con antígenos de proteínas bacterianas citoplasmáticas (9).

Por lo general, los anticuerpos anti *B. canis* se vuelven detectables entre 3 y 4 semanas después de la exposición, aunque en algunos casos puede tomar hasta 8-12 semanas, es importante destacar que, aunque la serología puede arrojar resultados positivos tan pronto como 2 semanas después de la infección, los resultados negativos no son confiables antes de transcurridas 12 semanas desde la infección (8).

La presencia de anticuerpos puede variar incluso cuando hay una persistencia de bacteriemia, y el nivel de los anticuerpos no indica el grado de la enfermedad (9). En ocasiones, los perros contagiados pueden obtener resultados negativos al principio al someterse a pruebas serológicas, en el caso de perros infectados de forma crónica, es

posible que presenten seronegatividad debido a la presencia de niveles bajos de anticuerpos en su circulación (19).

Aunque las pruebas serológicas pueden identificar los anticuerpos aglutinantes presentes en perros infectados, es importante destacar que estos anticuerpos no brindan protección contra la enfermedad clínica en el perro (9). Las pruebas serológicas que están diseñadas para identificar infecciones causadas por *Brucella spp.* lisas no serán capaces de detectar la presencia de la infección causada por *B. canis* (24).

1.3.4. Prueba de aglutinación rápida en portaobjetos

En 1974, se introdujo por primera vez la técnica de aglutinación rápida en portaobjetos (RSAT o prueba de la tarjeta), que aún se encuentra disponible en el mercado como D-Tec CB (Zoetis), esta prueba utiliza un antígeno de la pared celular de *B. ovis*, que ha sido teñido con rosa de bengala y tratado térmicamente para su inactivación, en lugar de *B. canis*, con el objetivo de facilitar su producción (8,9,32).

Los resultados favorables de los exámenes pueden manifestarse entre 2 y 4 semanas después de la infección, aunque en determinadas situaciones, puede haber un retraso de hasta 8 a 12 semanas para obtener resultados positivos (19). La prueba RSAT es una prueba sencilla que produce resultados en 2 minutos es una prueba muy sensible pero no demasiado específica (9).

La efectividad de este examen se reduce en perros que sufren de una infección crónica, ya que la presencia intermitente de bacterias en la sangre afecta los niveles de anticuerpos, disminuyendo así la sensibilidad de la prueba (24). Es poco común encontrar falsos negativos con esta prueba, sin embargo, los resultados falsos positivos pueden presentarse en aproximadamente el 60% de los perros cuyos sueros muestran la aglutinación del antígeno RSAT (32).

Debido a la interacción entre él y microorganismos de gran tamaño de la cápsula, como *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, y microorganismos del tipo *Moraxella*, así como algunas bacterias gramnegativas como *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas spp.* y *Actinobacillus equuli* (9,24).

Si un perro obtiene un resultado negativo en la prueba RSAT, es probable que no esté infectado, sin embargo, si el perro obtiene un resultado positivo en la prueba RSAT, se

necesitarán pruebas adicionales para confirmar la presencia de la infección por *B. canis* (11).

1.3.5. ELISA

La prueba de ELISA es considerada una de las mejores opciones para el diagnóstico serológico debido a que, aunque tarda aproximadamente 12 semanas después de la infección en detectar positividad, cuando se utilizan proteínas citoplasmáticas como antígeno, puede extenderse hasta 36 meses después de la bacteriemia, tiene altos niveles de sensibilidad y especificidad, alcanzando el 100% y 98,8% respectivamente, en comparación con el cultivo, sin embargo, debido a su alto costo, no se utiliza en todos los casos que se deben estudiar (36).

1.3.6. Tipos de ELISA

Existen diversas variantes de ELISA, algunas de las cuales pueden parecer contradictorias, aunque comparten fundamentos similares en términos de principios de reacción. Por consiguiente, se pueden clasificar en:

Técnicas indirectas que se enfocan en identificar anticuerpos específicos, ya sea de tipo IgG, IgM o IgA, que están dirigidos hacia un antígeno específico, como un virus, parásito, bacteria u hongo, para llevar a cabo este proceso de detección, se emplean sistemas que incluyen placas de poliestireno previamente sensibilizadas con los antígenos correspondientes (37).

Implica la identificación de antígenos y anticuerpos a través de la incubación de un antígeno en un pocillo de una placa de microtitulación, durante este proceso, se llevan a cabo lavados periódicos para eliminar el anticuerpo no unido y facilitar la formación del complejo antígeno-anticuerpo, posteriormente este complejo es detectado mediante la utilización de un segundo anticuerpo marcado enzimáticamente (38).

Según Abyntek (2019), los ensayos ELISA se clasifican en cuatro tipos principales basados en la interacción antígeno-anticuerpo: directo, indirecto, tipo sándwich y competitivo (39):

- **ELISA directo:** Este método es el más sencillo y rápido, donde un anticuerpo primario marcado con una enzima se une directamente al antígeno, el procedimiento básico incluye la inmovilización del antígeno en una placa, la

adición de un anticuerpo primario con enzima que se une al antígeno, y la adición de un sustrato que reacciona con la enzima para producir una señal detectable.

- **ELISA indirecto:** Similar al ELISA directo, pero implica dos pasos y dos anticuerpos (primario y secundario), el anticuerpo secundario está marcado con una enzima, lo que amplifica la señal, el antígeno se inmoviliza en una placa, se añade un anticuerpo primario sin marcar que se une al antígeno, seguido de un anticuerpo secundario marcado con enzima, y finalmente, un sustrato que reacciona con la enzima para generar una señal visible.
- **ELISA tipo sándwich:** En este tipo, el antígeno es capturado entre dos anticuerpos (de captura y de detección), el procedimiento incluye la inmovilización del anticuerpo de captura en una placa, la adición de la muestra con el antígeno, la adición de un anticuerpo de detección, y si es necesario un anticuerpo secundario marcado con enzima, un sustrato se añade al final para producir una señal detectable.
- **ELISA competitivo:** Este método es más complejo y se usa para detectar antígenos en bajas concentraciones, un antígeno de referencia compite con el antígeno de la muestra por la unión a un anticuerpo primario, el procedimiento involucra la inmovilización del antígeno de referencia en una placa, la incubación de la muestra con el anticuerpo primario para formar complejos antígeno-anticuerpo, la adición de esta mezcla a la placa, y luego la adición de un anticuerpo secundario marcado con enzima, finalmente un sustrato se añade para producir una señal inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra (39).

1.3.7. Rosa de bengala

Se emplea un antígeno contenido en una suspensión bacteriana, a la cual se le incorpora el tinte rosa de bengala, para ser confrontado con el suero no diluido del paciente afectado. Este método ofrece una aproximación diagnóstica rápida con una sensibilidad y especificidad considerablemente elevadas, mostrando una correlación significativa con la seroaglutinación (40).

1.3.8. Prueba rápida de aglutinación en portaobjetos modificada

La prueba de aglutinación rápida en portaobjetos modificada (ME-RSAT) utiliza 2-mercaptoetanol (2ME) para desactivar la inmunoglobulina M (IgM) presente en la

superficie de la bacteria *B. ovis*, esto previene la detección incorrecta de sueros positivos debido a la presencia de otras bacterias de cápsula grande o ciertas bacterias gramnegativas (9).

Si se aplica 2ME a una muestra de RSAT positiva, se eliminan los grupos de cinco moléculas de IgM que podrían afectar la medición de IgG en la muestra, evitando así interferencias en la evaluación, si la muestra se vuelve negativa tras el tratamiento con 2ME, se recomienda repetir el análisis del perro al menos 15 días después (8,24).

Una adaptación adicional de la prueba RSAT emplea una forma menos gelatinosa de *B. canis* (el antígeno M) en vez del *B. ovis* original, con el objetivo de mejorar la precisión de la prueba y facilitar la verificación de cualquier prueba de detección (9).

1.3.9. Inmunocromatografía

Esta técnica es capaz de evaluar la interacción entre antígeno y anticuerpo, y presenta una alta sensibilidad del 95,8% y una especificidad del 99,7% estas cifras la convierten en una prueba equiparable a otros métodos serológicos, lo que la posiciona como un método de diagnóstico valioso para detectar anticuerpos de *B. canis*, además, se destaca por su facilidad de uso, rapidez y coste económico (41).

1.3.10. Prueba de inmunodifusión en gel de agar

La prueba de inmunodifusión en gel de agar (AGID) se utiliza para confirmar los casos sospechosos de *B. canis*, que fueron detectados inicialmente mediante RSAT o ME-RSAT, los resultados positivos suelen aparecer de 8 a 12 semanas después de la infección, mientras que los resultados negativos suelen presentarse entre 3 y 4 años después (9).

El método AGID (AGIDcpa) para la detección de proteínas citoplasmáticas utiliza antígenos extraídos del citoplasma de *B. canis* y solo se lleva a cabo en un número limitado de laboratorios, esta prueba es altamente precisa para identificar la presencia de *Brucella* y resulta útil para diferenciar entre perros infectados y no infectados (32).

Otras pruebas, como la RSAT y el cultivo, son más efectivas para detectar infecciones tempranas por *B. canis*, por lo tanto, esta prueba no debería ser utilizada como un método de cribado, además, la prueba AGIDcwa, que utiliza el antígeno de la pared celular, es menos precisa en comparación con la prueba AGIDcpa (9).

1.3.11. PCR

Se han desarrollado iniciadores de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el propósito de identificar el ADN de *B. canis* en diferentes muestras biológicas, como sangre completa, secreciones vaginales, orina y semen (42). La PCR para detectar el ADN de *B. canis* en muestras de orina, semen o fluidos vaginales es más precisa y sensible en comparación con los métodos de cultivo sanguíneo o pruebas serológicas (19).

La PCR es una herramienta que se puede emplear como confirmación para perros que han dado positivo en la prueba de seropositividad y tiene la capacidad de detectar de manera rápida la presencia de la infección en grupos de perros alojados en perreras, además de permitir la identificación de la especie y la variante biológica (19).

Para llevar a cabo esta prueba se requiere un nivel mínimo de contención biológica y los resultados se obtienen en un tiempo relativamente corto esto puede facilitar el seguimiento de la enfermedad y la determinación de las fuentes de contagio (19).

1.4. Abordaje médico para manejar la enfermedad

No se aconseja tratar exclusivamente la brucelosis canina mediante medicamentos, *B. canis*, se oculta dentro de las células del huésped evadiendo el sistema inmunológico durante períodos prolongados, y la presencia de bacterias en la sangre puede ser intermitente, lo que dificulta el éxito del tratamiento (8,43).

No se ha logrado un éxito total del 100% en ningún régimen antimicrobiano para alcanzar una curación estéril de *B. canis*, lo cual implica que los antimicrobianos no constituyen la solución exclusiva para tratar esta enfermedad, aunque se han llevado a cabo múltiples ciclos de tratamiento con antimicrobianos, es común que la infección resurja, existe un consenso generalizado en que el tratamiento antimicrobiano, tanto individual como combinado, no puede eliminar la infección persistente en los perros infectados (19).

Los perros que han sido castrados y están infectados con *B. canis* pueden continuar expulsando bacterias en la orina, lo que facilita la transmisión de la infección tanto a perros como a humanos, aunque se haya administrado un tratamiento antimicrobiano, se aconseja mantener una vigilancia continua de los perros afectados debido a la preocupación de que puedan liberar organismos al medio ambiente a través de la orina (19,32).

La prevención, en lugar de la gestión, de la enfermedad debe ser el foco principal. Sería óptimo detectar la fuente de la infección, aunque los criadores a veces se muestran renuentes a colaborar en el rastreo de la enfermedad debido al temor de revelar prácticas deficientes de manejo animal, algunos estados han optado por la eutanasia de todos los perros infectados con *B. canis*, con el objetivo de eliminar o al menos frenar su propagación (11).

La *Brucella canis* es una bacteria intracelular resistente, por lo tanto, no se debe reutilizar un reproductor de criadero para fines de reproducción, se recomienda siempre realizar la esterilización quirúrgica para evitar la liberación de bacterias en el medio ambiente, existen diversos protocolos que incluyen el uso de tetraciclinas en combinación con macrólidos o sin ellos, así como el uso de quinolonas, durante el tratamiento con tetraciclinas, es importante vigilar la aparición de síntomas digestivos, y se obtienen buenos resultados si se administran cada 12 horas, los controles deben realizarse un mes después del inicio del tratamiento, una vez que el perro ha sido esterilizado, puede parecer sano, lo que dificulta que el propietario comprenda la necesidad de seguir controlando al paciente (44).

1.5. Prevención

En la actualidad, la prevención se enfoca en reducir la exposición de los perros en los criaderos a la infección, además de identificar y eliminar a los perros infectados por *B. canis*, para evitar la propagación de la infección, es necesario realizar pruebas anuales a todos los perros reproductores y a aquellos que sean introducidos en el criadero, se requiere que se obtengan dos resultados negativos consecutivos en un intervalo de 4 a 6 semanas como requisito previo para permitir la entrada y el contacto con los perros en el criadero (9,32).

Únicamente los perros que no tengan historial previo de exposición al *B. canis* y no presenten síntomas clínicos de brucelosis al momento de ingresar al lugar de compra, podrán ser aceptados y considerados para venta, todos los perros utilizados para la reproducción deben dar negativo en la prueba de serología para el *B. canis*, la implementación de medidas de bioseguridad es esencial una vez que se haya obtenido el resultado negativo para el *B. canis* en el criadero (19).

Los laboratorios de diagnóstico veterinario están obligados a informar a las autoridades sanitarias estatales cuando obtengan resultados positivos en cualquier prueba de

confirmación, además, es esencial que los veterinarios eduquen a los propietarios sobre el control y la prevención de *B. canis*, para lograr esto, se debe proporcionar a los propietarios de perros material apropiado diseñado para enseñarles sobre todos los aspectos de la bioseguridad, especialmente si sus perros son positivos a *B. canis* (24).

Estos documentos deben describir la correcta higiene al manipular la orina de perros y las secreciones reproductivas, así como las opciones para tratar a perros que son seropositivos a *B. canis*, como la esterilización, el uso de medicamentos antimicrobianos y la eutanasia en caso de que los dueños no puedan o no deseen llevar a cabo el tratamiento, estas medidas deben ser implementadas por todo el personal que entre en contacto durante y después de cualquier caso sospechoso de brucelosis en hospitales veterinarios, especialmente en perras con secreción vaginal evidente (45).

1.6. *Brucella abortus* en caninos

La brucelosis canina ha sido registrada a nivel global y se considera endémica en América, Asia y África, estudios serológicos realizados en diversos países de estas regiones han documentado tasas de seropositividad que varían entre el 1% y el 28 % (14).

La infección de perros con *B. abortus* es rara y esporádica, aunque los perros que habitan en granjas o frecuentan áreas cercanas a la industria animal y vertederos urbanos pueden ser considerados posibles portadores (46). Este contacto se produce principalmente por la ingestión de tejido animal, restos placentarios o fetos abortados contaminados con la bacteria (47). Se sugiere incluirlos en cualquier investigación y programa de erradicación de la brucelosis, esto contribuirá a interrumpir los ciclos de esta enfermedad epizootica (46).

La bacteriemia persiste en el organismo del animal por extensos lapsos, pudiendo prolongarse a lo largo de varios años, si los perros afectados no son aislados la infección se propaga de manera rápida, para el control de la enfermedad se recomienda realizar la castración y tratamiento o en su defecto la eutanasia de los animales enfermos, además, se aconseja la implementación de cuarentenas con un seguimiento serológico de aquellos que se consideren sospechosos (48).

Los perros muestran una notable resistencia a las cepas lisas de *Brucella spp.*, y es poco común observar manifestaciones clínicas evidentes como resultado de la enfermedad, sin

embargo, en casos de bacteriemia transitoria, algunos animales pueden desarrollar linfadenopatías y otras manifestaciones de la infección (47).

La identificación precisa de perros enfermos es de suma importancia, ya que constituyen fuentes potenciales de contaminación al eliminar el agente infeccioso a través de diversos fluidos como orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados o heces (49,50). Destacaron la presencia y persistencia de *B. abortus* en las descargas vaginales de perras, persistiendo más allá de los 42 días después del parto o aborto (49). Esta descarga, junto con los restos de abortos de perras afectadas, representa el material de mayor riesgo en la transmisión del agente a otros perros y animales de producción (50).

1.7. Tipos de especies de *Brucella* y su diferenciación

Las cepas lisas incluyen a *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti*, *B. inopinata* y *B. papionis*, mientras que las cepas rugosas son *B. ovis* y *B. canis* (51).

Las cepas lisas de *Brucella*, como *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*, expresan la cadena lateral O como elemento inmunodominante en el lipopolisacárido de su superficie, esta característica convierte a dicha cadena lateral en la base antigénica de pruebas de diagnóstico como BPA, SAT y 2-ME, permitiendo así la detección de especies lisas, en el caso de las cepas rugosas de *Brucella*, como *B. canis*, las pruebas difieren de aquellas diseñadas para las cepas lisas, ya que *B. canis* carece de la cadena lateral O en su superficie, para el análisis serológico de *B. canis*, se utiliza la prueba RSAT en consecuencia, si un perro resulta positivo para la prueba de *B. canis* no es posible que sea positivo para la prueba de *B. abortus* y viceversa (52).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de estudio

Este estudio adopta un enfoque descriptivo, enfocado en determinar la prevalencia de *Brucella canis* a través de dos métodos específicos. Es de naturaleza observacional, ya que se basa en la observación y medición de la enfermedad sin alterar el entorno de estudio. Además, se clasifica como transversal, dado que recopila datos en un momento específico en la cabecera cantonal del cantón Celica, sin seguimiento a lo largo del tiempo.

2.2. Paradigma

El paradigma es positivista lógico incluye los métodos observacionales ya que este estudio se basará en la metodología de observación de los datos recopilados.

2.3. Ubicación

El presente estudio se realizó en la cabecera cantonal del cantón Celica. El cantón Celica limita al norte con Paltas y Puyango, al sur con los cantones de Macará y Zapotillo, al este con los cantones de Paltas y Sozoranga y al oeste con los cantones de Pindal y Zapotillo.

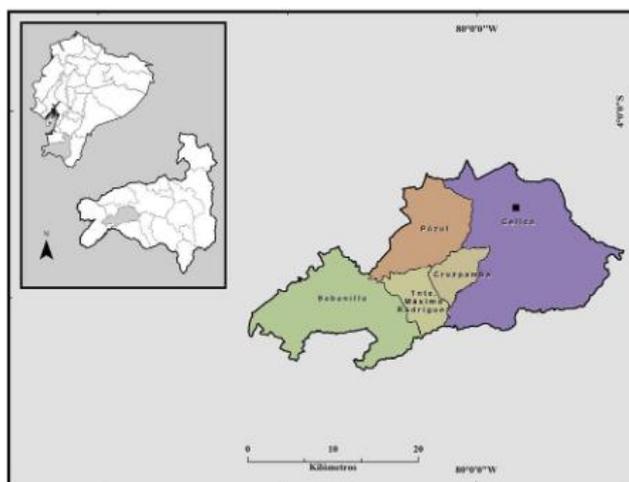


Ilustración 1. Cabecera cantonal del cantón Celica

Fuente: (53).

2.4. Selección

En este estudio se utilizaron caninos de diferente tamaño, peso, raza y en edad reproductiva, además, a cada animal se le realizó un examen físico para conocer las constantes fisiológicas y llenar la ficha clínica.

2.5. Población y muestra

2.5.1. Población

La población o universo estuvo conformada por 380 perros que fueron vacunados durante la campaña antirrábica realizada en el 2022 en el centro de salud Celica, ubicado en la zona urbana de la cabecera cantonal del cantón Celica

2.5.2. Muestra

Se trabajó con un tamaño muestral de 117 caninos (n=117). Para determinar este número se consideró una prevalencia esperada del 50% porque no se tienen datos de la enfermedad en la zona, un margen de error del 10% y nivel de confianza del 99%. Se aplicó la siguiente fórmula para poblaciones finitas:

$$n = \frac{N * Z_{1-\alpha/2}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{1-\alpha/2}^2 * p * q}$$

Donde:

N= tamaño de la población
n= tamaño de la muestra
p= población a favor
q= población en contra
z= nivel de confianza
 α = margen de error

Fórmula aplicada:

$$n = \frac{380 * (2,58)^2 * 0,5 * 0,5}{(0,1)^2 * (380 - 1) + (2,58)^2 * 0,5 * 0,5} = 116 [117]$$

2.5.3. Criterios de Exclusión e Inclusión

- **Criterios de Exclusión:**
 - ✓ Perros menores de un año
 - ✓ Caninos que no pertenezcan al cantón Celica

- **Criterios de Inclusión:**
 - ✓ Todos los perros en edad reproductiva (1 año de edad en adelante)
 - ✓ Caninos que vivan en el cantón Celica

2.5.4. Variables

- Edad
- Raza
- Sexo
- Estado reproductivo
- Área de vivienda
- Problemas reproductivos
- Hematocrito
- Sólidos totales

2.6. Materiales

2.6.1. Materiales de campo

- Caja térmica
- Bolsas de gel refrigerante
- Jeringas de 5 ml
- Algodón
- Torniquete
- Tijeras
- Tubos para recolección de muestras de 1 ml (tapas rojas y moradas)
- Guantes de nitrilo
- Formularios de consentimiento informado
- Fichas epidemiológicas
- Desparasitante
- Esferográficos
- Marcadores
- Etiquetas para identificación de las muestras

2.6.2. Materiales y reactivos de laboratorio

- Puntas de pipeta de 1000 ul, 200 ul y 10 ul
- Gradillas para puntas de pipeta de 1000 ul, 200 ul y 10 ul
- Tubos Eppendorf de 1,5 ml
- Caja de almacenamiento para congelador de tubo centrífugo
- Pipetas automáticas de 1000 ul, 200 ul y 10 ul
- Kit VETLIS® Brucella iELISA Caninos (Chemtest Argentina S.A. - 15-VL03/2312-1/Argentina)
- Antígeno para Brucelosis Rosa de Bengala (Livexlab - RB 0423 - Ecuador)
- Probeta de vidrio graduada de 200 ml
- Vasos de precipitado de 50 ml y 100 ml
- Alcohol antiséptico botella de 1000 ml
- Centrífuga Hettich centrifuga Mikro 200 - Alemania
- Lector de microelisa RT- 6900 Microplate reader, Rayto - China
- Centrífuga de micro hematócrito
- Refractómetro
- Tubos capilares para micro hematocrito
- Plastilina selladora para capilares
- Papel absorbente
- Papel higiénico
- Aglutinoscopio de madera con su placa de cristal (Artesanal)
- Nevera (2 - 4 °C) Indurama refrigerador, RI 580 MF QUA METAL NOF S01 – Ecuador)
- Papel aluminio
- Bata de laboratorio
- Materiales de oficina

2.7. Técnicas

Para la ejecución del presente estudio, se llevó a cabo la selección de animales por medio de campañas de desparasitación en el cantón Celica, al igual que visitas casa a casa. Por consiguiente, resultó crucial desarrollar estrategias de publicidad y difusión previas a las

fechas establecidas en cada localidad. Estos anuncios se promocionaron en plataformas de redes sociales como Facebook, Instagram y WhatsApp y radio local, con el objetivo de generar mayor interés y aumentar la participación de pacientes en la campaña de desparasitación, y, por ende, en el estudio correspondiente.

Las fechas y ubicaciones designadas para las campañas de desparasitación y toma de muestras en el cantón Celica fueron las siguientes:

- Celica: 18 de febrero y 10 de marzo de 2024, en las instalaciones de la antigua escuela Simón Bolívar.
- Además, los días 11 y 12 de marzo de 2024 se llevó a cabo la visita casa por casa en los diversos barrios del cantón Celica.

2.7.1. Recolección de datos de los caninos

En primer lugar, se llevó a cabo una charla explicativa donde se les informó a los tutores sobre la investigación y se les pidió que aquellos que deseaban participar dejaran sus firmas al final del documento (Anexo 18), luego se llevó a cabo la recolección de muestras e información mediante una campaña de desparasitación gratuita y de igual manera tomando muestras de casa en casa. Durante este proceso, se aplicó una encuesta epidemiológica que cubría una variedad de aspectos, como la alimentación, el estado de esterilización, la edad, la raza y el sexo de los caninos. Además, se recopiló información sobre problemas reproductivos y el historial de salud, incluyendo casos de abortos (Anexos 16,17).

2.7.2. Metodología de campo

2.7.2.1. Toma de la muestra, transporte y conservación

Primero se obtuvo el consentimiento informado de los tutores de los perros, a continuación, se realizó la extracción de muestras sanguíneas mediante venopunción de la vena cefálica y utilizando tubos tapa roja sin anticoagulante y tubos con anticoagulante EDTA K3 de 1 ml. En todos los caninos se recolectaron 2 ml de sangre, 1 ml para cada tubo. Posteriormente, las muestras se almacenaron en un cooler a una temperatura controlada de 3° a 8° C y se refrigeraron hasta su transporte al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, para su análisis.

2.7.2.2. Extracción y almacenamiento del suero sanguíneo

Cada muestra sanguínea se sometió a centrifugación (Centrífuga Hettich centrifuga Mikro 200 – Alemania) a 2000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, luego se transfirió el suero a un tubo cónico de 1,5 ml y se guardó en la nevera (+ 4 ° C / + 6 ° C), hasta el momento de su uso. Este suero siguió dos rutas: primero, se realizó una tinción de Rosa de Bengala para detectar la presencia de antígeno de *Brucella abortus*, y luego se llevó a cabo un ensayo de ELISA indirecto para identificar anticuerpos contra *Brucella canis*. La aplicación de la tinción de Rosa de Bengala permite discernir la existencia del antígeno específico, mientras que la prueba de ELISA indirecto se enfoca en la detección de anticuerpos asociados con la presencia de *Brucella canis* en la muestra canina.

2.7.3. Metodología de laboratorio

2.7.3.1. Técnica de Rosa de bengala

Para la tinción de Rosa de Bengala, se inició con la colocación de la muestra de suero sanguíneo 30 µl en una placa de vidrio limpio, luego se aplicó la Rosa de Bengala en volumen de 30 µl directamente sobre la muestra de suero, permitiendo que la tinción tenga contacto con el suero canino, con un palillo se mezcló bien el antígeno con el suero problema formando una zona circular u ovalada, se agitó ligeramente la placa de cristal durante cuatro minutos con movimientos descendentes y ascendentes, se observó la reacción y se interpretaron los resultados (54).

Validación de la prueba Rosa de bengala [RB]

Para el proceso de validación se emplearon tanto un control positivo como un control negativo para evaluar la eficacia del reactivo. Además, se utilizó un modelo de comparación para analizar los resultados obtenidos. Para el control positivo se utilizó una cepa propia de *Brucella abortus* del laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Machala y para el negativo agua destilada tipo II.

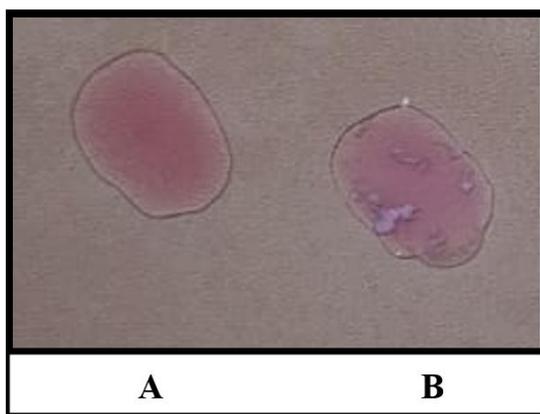


Ilustración 2. Control(A) y muestra positiva(B)

Fuente: Autor, (2024).

2.7.3.2. Técnica ELISA indirecto

La técnica se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante (55):

Preparación de reactivos: Se prepara una solución de lavado 1X, que se utiliza para lavar la placa durante el proceso. El conjugado IgG se diluye utilizando la solución de lavado 1X.

Preparación de controles: Se preparan controles positivos y negativos, que se diluyen en diluyente de muestra. Se agrega un blanco de muestra constituido por el diluyente de muestra.

Preparación de muestras: Las muestras de suero se diluyen 1/400 utilizando el diluyente de muestra.

Instrucciones de uso:

- Se deja que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
- Se procesan los controles y las muestras en la placa.
- Se cubre la placa e incuba a temperatura ambiente con agitación suave.
- Se realiza el lavado de la placa varias veces con la solución de lavado 1X.
- Se agrega el conjugado y se incuba nuevamente.
- Se repite el lavado de la placa.

- Se agrega la solución sustrato-cromógeno en cada pocillo y se incuba en oscuridad.
- Se detiene la reacción agregando la solución de frenado.
- Se mide la absorbancia a 450 nm utilizando un espectrofotómetro de placas.

Es importante seguir cuidadosamente cada paso para garantizar resultados precisos y confiables en la detección de la enfermedad.

Validación de la prueba de ELISA

El promedio de la absorbancia a 450 nm para el Control Positivo (CP) debe ser superior a 1,0 (Promedio Abs450 CP > 1,0).

Los valores de absorbancia a 450 nm de los duplicados de los controles (CP y CN) y las muestras no deben variar más del 20% en comparación con el promedio del duplicado.

La absorbancia a 450 nm del Blanco de muestra (Blc Mtra) debe ser inferior a 0,1 (Abs450 Blc Mtra < 0,1).

El promedio de la absorbancia a 450 nm del Control Negativo (CN) debe ser menor a 0,15 (Promedio Abs450 CN < 0,15).

La relación entre el promedio de absorbancia a 450 nm del CP y el promedio de absorbancia a 450 nm del CN debe ser superior a 6 (Promedio Abs450 CP / Promedio Abs450 CN > 6).

Interpretación de la prueba de ELISA

Para cada muestra, es necesario calcular el valor de S/P y luego ingresar los títulos de anticuerpos obtenidos en el espectrofotómetro en una matriz de Excel. Esto permitirá determinar de manera efectiva la presencia o ausencia de anticuerpos.

PR	Interpretación
≤ 32%	Negativo
>32% ≤ 51%	Indeterminado
>51%	Positivo

Tabla 1. Interpretación prueba de Elisa

2.8. Estadística

En el análisis de este estudio, se realizó estadística descriptiva mediante tablas de frecuencia absoluta y relativa. Para relacionar la variable presencia de anticuerpos de la enfermedad con las variables individuales se empleó la prueba estadística de Chi-cuadrado. Los datos recopilados fueron organizados y depurados en una hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2019. Todos los análisis fueron realizados utilizando el programa estadístico Jamovi versión 2.3.

2.9. Aspectos éticos

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los tutores de los perros participantes y se garantizó la confidencialidad de la información y el bienestar de los animales durante el proceso.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

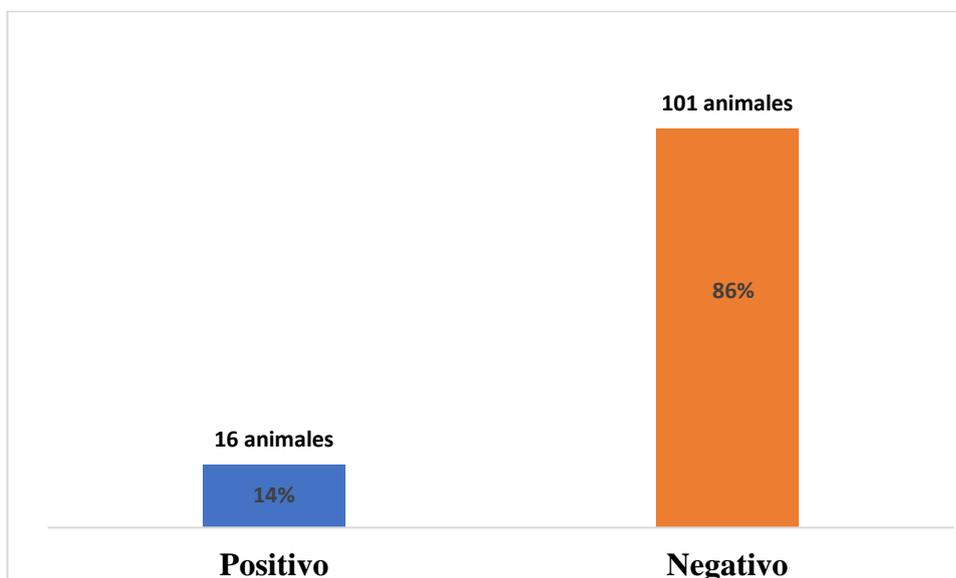
3.1. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la técnica de ELISA

De la totalidad de 117 animales muestreados, se detectaron 16 animales positivos equivalente al 14% (16/117). Así mismo se encontraron un total de 27 muestras de suero indeterminados que representaron el 23 % y un total de 74 sueros negativos representando el 63 %. Cabe mencionar que el porcentaje de indeterminados para esta investigación se consideraron negativos debido a la incertidumbre inherente asociada con estos resultados, quedando un total de 14 % de positividad y en 86 % de negatividad a la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* como se demuestra en la tabla 2 y el gráfico 1.

Tabla 2. *B. canis* mediante técnica de ELISA

Resultado	n	%
Positivo	16	14
Negativo	101	86
Total	117	100

Gráfico 1. *B. canis* mediante técnica de ELISA



Fuente: Autor, (2024).

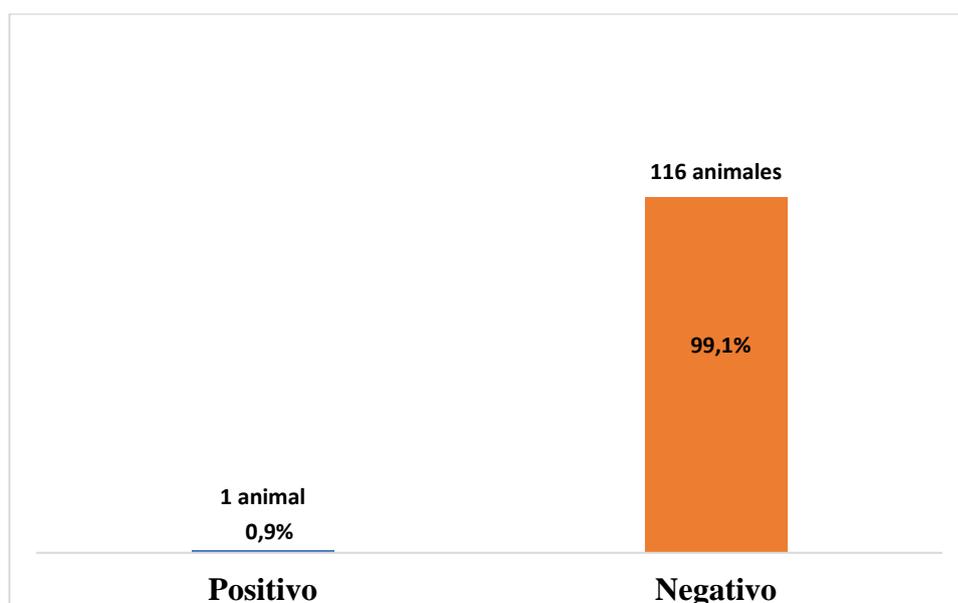
3.2. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la técnica de Rosa de Bengala.

De la totalidad de 117 animales muestreados, se detectó un animal positivo para anticuerpos de *Brucella abortus*, equivalente al 0,9% (1/117), así como un total de 116 negativos representando el 99,1 % como se observa en la Tabla 3 y el grafico 2.

Tabla 3. *B. abortus* mediante técnica de Rosa de Bengala

Resultado	n	%
Positivo	1	0,9
Negativo	116	99,1
Total	117	100

Gráfico 2. *B. abortus* mediante técnica de Rosa de Bengala



Fuente: Autor, (2024).

3.3. Factores asociados a la presencia de anticuerpos de *Brucella canis*, técnica de ELISA.

Para la presente investigación se utilizó una prueba de asociación de 8 variables de estudio (sexo, edad, raza, estado reproductivo, área de vivienda, problemas reproductivos, hematocrito y sólidos totales) con condición de posible factor de riesgo y se relacionó con la presencia de brucelosis canina en los animales de estudio.

Dentro de la variable sexo, 69 animales fueron machos, de los cuales siete mostraron resultados positivos, representando el 10,1% (7/69). Mientras que 48 fueron hembras, y nueve de estas arrojaron resultados positivos en la técnica de ELISA representando el 18,8% (9/48). Al asociar la positividad con el sexo de los animales se encontró un p valor de [0,183] confirmando que esta variable no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p > 0,05$). Estos resultados sugieren que, en nuestro estudio el sexo del animal no es un factor determinante en la susceptibilidad a la infección por *Brucella canis*.

En cuanto a la variable edad, se analizaron 74 animales de 1 a 3 años de edad, de los cuales 11 resultaron positivos 14,9% (11/74); también existieron 27 perros de 3 a 6 años en los que tres resultaron positivos 11,1% (3/27), y de la categoría de > 6 años, fueron un total de 16 animales con dos positivos 12,5% (2/16). Los resultados obtenidos en relación con la variable de edad mediante la técnica de Elisa muestran una distribución interesante entre las diferentes categorías de edad. Es importante destacar que no se encontró una asociación estadística significativa entre la edad y la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p > 0,05$) ya que se encontró un p valor de [0,879] esto sugiere que la edad por sí sola no es un factor determinante en la probabilidad de ser portador de esta infección.

Con respecto a la variable raza de los animales, se analizaron 65 perros de raza definida (French Poodle, Husky siberiano, Labrador retriever, Pit bull) y se encontraron un 13,8% (9/65) de positivos. Además, se tuvieron 52 perros mestizos, de los cuales el 13,5% (7/52) fueron positivos para la presencia de anticuerpos. Esta característica no estuvo correlacionada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p > 0,05$). Es relevante destacar que no se encontró una correlación estadística significativa entre la raza de los perros y la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* teniendo un p valor de [0,952] esto sugiere que, en nuestra muestra, la raza por sí sola no parece ser un factor determinante en la susceptibilidad a la infección por *Brucella canis*.

En la variable estado reproductivo (ER), se examinaron 111 animales enteros, de los cuales 15 mostraron resultados positivos, representando el 13,5% (15/111). Mientras que 6 estaban esterilizados, y dentro de este grupo uno fue positivo en la técnica de ELISA representando el 16,7% (1/6). Esta variable no estuvo asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p > 0,05$). El estado reproductivo de los animales no

parece estar significativamente asociado con la presencia de dichos anticuerpos como lo indica el p valor [0,827], aunque el porcentaje de animales esterilizados que resultaron positivos fue ligeramente mayor que el de animales enteros, esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p > 0,05$). Este hallazgo sugiere que la esterilización como medida de control reproductivo no influye de manera considerable en la susceptibilidad a la infección por *Brucella canis* en nuestra muestra.

En cuanto a la variable área de vivienda, se analizaron 21 animales de zona rural, de los cuales siete resultaron positivos 33,3% (7/21); también existieron 96 perros de zona urbana de los cuales nueve resultaron positivos 9,4% (9/96). Esta variable mostró asociación estadística con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p < 0,05$). Esta variable mostró una asociación estadística significativa con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*, se encontró un p valor de [0,004], indicando que los perros de zonas rurales tienen una mayor probabilidad de ser positivos en comparación con los de zonas urbanas.

Con respecto a los problemas reproductivos, se encontraron cuatro animales con problemas de abortos de los cuales 3 fueron positivos representando el 75,0% (3/4). También se tuvieron 113 perros sin alteraciones reproductivas, de los cuales el 11,5% (13/113) fueron positivos para la presencia de anticuerpos. Esta característica estuvo correlacionada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*, al asociar la positividad con los problemas reproductivos de los animales se encontró un p valor de [0,001] confirmando que esta variable está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren una fuerte asociación entre problemas reproductivos y la infección por *Brucella canis* en nuestro estudio.

En la parte clínica se analizaron los valores promedio del hematocrito y los sólidos totales en relación con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*. Los valores p obtenidos fueron de [0,073] y [0,563], respectivamente. Estos resultados indican que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los casos positivos y negativos ($p > 0,05$) para ninguno de estos parámetros. En consecuencia, no parece haber una asociación entre estos valores clínicos y la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis* en nuestras muestras. Es importante destacar que la falta de correlación entre estos parámetros clínicos y la infección por *Brucella canis* sugiere que otros factores pueden

estar involucrados en la determinación de la positividad en la prueba de anticuerpos, como la exposición ambiental o la respuesta inmune individual de los animales.

Tabla 4. Características asociadas a *B. canis*, técnica de ELISA

Variables	<i>Brucella canis</i>		p valor
	Negativo (n=101) n (%)	Positivo (n=16) n (%)	
Sexo			0,183
Hembra	39 (81,3)	9 (18,8)	
Macho	62 (89,9)	7 (10,1)	
Edad			0,879
1 a 3 años	63 (85,1)	11 (14,9)	
3 a 6 años	24 (88,9)	3 (11,1)	
6 años en adelante	14 (87,5)	2 (12,5)	
Raza			0,952
Definida	56 (86,2)	9 (13,8)	
Mestizo	45 (86,5)	7 (13,5)	
Estado reproductivo			0,827
Entero	96 (86,5)	15 (13,5)	
Esterilizado	5 (83,3)	1 (16,7)	
Área de vivienda			0,004
Rural	14 (66,7)	7 (33,3)	
Urbana	87 (90,6)	9 (9,4)	
Problemas reproductivos			<0,001
Si (abortos)	1 (25,0)	3 (75,0)	
No	100 (88,5)	13 (11,5)	
Hematocrito*	47,5	52,7	0,073
Sólidos totales*	76,4	78,6	0,563

*Se calculó los promedios de n = 115

3.4. Factores asociados a la presencia de anticuerpos de *Brucella abortus*, técnica Rosa de Bengala

En relación a la variable sexo, se muestrearon 69 machos, de los cuales uno fue positivo, representando el 1,4% (1/69). Mientras que las 48 hembras resultaron negativas. El p valor obtenido fue de [0,402] lo que nos indica que esta variable no estuvo asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$). Estos hallazgos sugieren que, en nuestra muestra, el sexo del animal no parece ser un factor determinante en la susceptibilidad a la infección por *Brucella abortus*. Sin embargo, es esencial tener en cuenta que la muestra de machos positivos fue muy pequeña, lo que podría limitar nuestra capacidad para detectar una asociación significativa.

Con respecto a la variable edad, se analizaron 74 animales de 1 a 3 años de edad, de los cuales no hubo positivos; no obstante, en los 27 perros de 3 a 6 años se evidenció un resultado positivo 3,7% (1/27), y en los perros de la categoría de > 6 años tampoco hubo casos positivos. Al asociar la positividad con la edad de los animales, se obtuvo un p valor de [0,186] confirmando que esta variable no está significativamente asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$).

En relación a la variable raza, en los 65 perros de raza definida se encontró un positivo (Husky siberiano), lo que representa el 1,5% (1/65). En los perros mestizos, no se detectaron casos positivos para la presencia de anticuerpos. Esta característica no estuvo correlacionada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$). A pesar de estas observaciones, no se encontró una correlación estadística significativa con un p valor de [0,369] entre la raza y la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$). Estos resultados sugieren que, en nuestra muestra, la raza por sí sola no parece ser un factor determinante en la susceptibilidad a la infección por *Brucella abortus*.

En la variable estado reproductivo, se examinaron 111 animales enteros, de los cuales uno fue positivo, representando el 0,9% (1/111). Mientras que en los 6 esterilizados, no hubo resultados positivos. Al asociar la positividad con el estado reproductivo de los animales se encontró un p valor de [0,815] confirmando que esta variable no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$).

En la variable área de vivienda, se analizaron 21 animales de zona rural, de los cuales uno resultó positivo 4,8% (1/21); también existieron 96 perros de zona urbana en los que no hubo positivos. Al asociar la positividad con la variable área de vivienda de los animales se encontró un p valor de [0,083] confirmando que esta variable no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$). Por lo tanto, no se puede concluir que los perros de zonas rurales tengan una mayor probabilidad de ser positivos en comparación con los de zonas urbanas.

Con relación a los problemas reproductivos, se analizaron cuatro animales con problemas de abortos y no se encontraron casos positivos. También se tuvieron 113 perros sin alteraciones reproductivas, de los cuales el 0,9% (1/113) fueron positivos para la presencia de anticuerpos. Al asociar la positividad con el sexo de los animales se encontró un p valor de [0,850] confirmando que esta característica no está asociada con la presencia

de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$), indicando que los problemas reproductivos no parecen estar asociados con la infección en nuestra muestra.

En la parte clínica se compararon los valores promedios del hematocrito y los sólidos totales entre casos positivos y negativos y no hubo diferencia estadística, al asociar la positividad de los animales se encontró un p valor de [0,218] y [0,640] para el hematocrito y los sólidos totales respectivamente confirmando que estas variables no están asociadas con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* ($p > 0,05$). Por lo tanto, los hallazgos sugieren que ni el hematocrito ni los sólidos totales están relacionados con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en esta muestra.

Tabla 5. Características asociadas a *Brucella abortus*, técnica Rosa de Bengala

Variables	<i>Brucella abortus</i>		p valor
	Negativo (n=116) n (%)	Positivo (n=1) n (%)	
Sexo			0,402
Hembra	48 (100,0)	0 (0,0)	
Macho	68 (98,6)	1 (1,4)	
Edad			0,186
1 a 3 años	74 (100,0)	0 (0,0)	
3 a 6 años	26 (96,3)	1 (3,7)	
6 años en adelante	16 (100,0)	0 (0,0)	
Raza			0,369
Definida	64 (98,5)	1 (1,5)	
Mestizo	52 (100,0)	0 (0,0)	
Estado reproductivo			0,815
Entero	110 (99,1)	1 (0,9)	
Esterilizado	6 (100,0)	0 (0,0)	
Área de vivienda			0,083
Rural	20 (95,2)	1 (4,8)	
Urbana	96 (100,0)	0 (0,0)	
Problemas reproductivos			0,850
Si (abortos)	4 (100,0)	0 (0,0)	
No	112 (99,1)	1 (0,9)	
Hematocrito*	48,3	35,0	0,218
Sólidos totales*	76,8	70,0	0,640

*Se calculó los promedios de n = 115

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se identificó la presencia de anticuerpos contra *B. canis* en perros ubicados en la cabecera cantonal del cantón Celica, a través de un análisis serológico Elisa indirecta. Se evidenció una prevalencia del 14% (16/117), indicando que la población canina en esta área ha estado expuesta a la bacteria en algún momento de sus vidas.

En relación a los estudios de frecuencia realizado para brucelosis canina en países cercanos se ha reportado prevalencias diversas, encontrando frecuencias bajas como las del estudio realizado en refugios en Bogotá (Colombia) en 2021, donde se encontró una seroprevalencia de *B. canis* del 1,96% (1/51) (17). Así mismo, un estudio similar en el norte de Antioquia (Colombia) para detectar la presencia de infección no identificó ningún caso de infección para *B. canis* (0%), como factores de riesgo mencionaron pasar la mayor parte del tiempo en el exterior de la vivienda, y que la vivienda tenga el piso de tierra (56). Estudios en Medellín (Colombia) también muestran una variabilidad significativa en los resultados, por un lado, un estudio sobre seroprevalencia de *Brucella canis* y *Leptospira spp.* en caninos reportó una seroprevalencia del 7,32% para *B. canis* (57). Un estudio realizado en los humedales del Pantanal (Brasil), se observó una tasa de seropositividad del 7,8% para *B. canis*, un valor inferior al encontrado en nuestra investigación (58). Así mismo en la ciudad de Talca (Chile), se tomaron muestras de sangre y se colectaron los testículos de 30 caninos, se encontró 6,6% (2/30) de individuos positivos (59). En contraste, se observan discrepancias significativas, en los estudios realizados en centros de rescate y adopción animal como el de la ciudad de Huancayo (Perú), donde se encontró una prevalencia general de brucelosis del 33,67%, una cifra bastante superior a la encontrada en nuestro estudio (60). Estas discrepancias resaltan la importancia de considerar factores geográficos, ambientales y de gestión de poblaciones de animales al interpretar los resultados de estudios de seroprevalencia de *Brucella canis*.

En varios estudios realizados en diferentes regiones de Ecuador, donde se han observado variaciones significativas en cuanto a la prevalencia de *Brucella canis*. Teniendo estudios de frecuencias con incidencias bajas como en un estudio realizado en Latacunga (Cotopaxi) en el barrio Salache en 2018 en donde se registró una prevalencia del 1% (1/100) mediante un test de diagnóstico rápido para anticuerpos contra *Brucella canina* (61). Por otro lado, en el Barrio El Boliche de la parroquia Pastocalle (Cotopaxi) mediante

la técnica de inmunocromatografía (Kit Rapid Test) en 75 caninos se obtuvo una prevalencia del 0% a *Brucella canis*, no se observó relación entre factores de riesgo y la manifestación de la enfermedad en el estudio (62).

Así mismo incidencias de frecuencia moderadas o altas, en un estudio realizado en la Parroquia Belisario Quevedo (Ecuador) se obtuvo la prevalencia del 6% (6/100) (63). En la parroquia Chorocopte (Cañar) en el año 2021, en un estudio se empleó la técnica de ELISA para analizar a 200 animales, identificando la presencia de la bacteria en el 10% (20/200) de los perros (64). Además, en Latacunga en la comunidad de San Agustín de Callo (Cotopaxi) usando la prueba *Brucella* Ab test kit se obtuvo una prevalencia general del 15 % (11/75), los factores asociados a los positivos fueron la edad un gran porcentaje de animales positivos se encuentra en el rango de 1 – 5 años, el ambiente donde desarrollan, su alimentación y el control sanitario que el propietario destina a su mascota (34). Así mismo en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí (Cotopaxi) se muestrearon 316 caninos en edad reproductiva machos y hembras en el periodo comprendido desde octubre del 2019 hasta diciembre del 2020 se encontró prevalencia de brucelosis canina del 12 % (38/316), en el estudio no se encontró asociación significativa entre la prevalencia de *Brucella canis* y variables de estudio (65).

La alta incidencia de Brucelosis canina encontrada en nuestro estudio está estrechamente relacionada con el hecho que estos animales tienen acceso a entornos exteriores que incluyen calles de tierra, terrenos baldíos y áreas con vegetación circundante, como pequeños bosques. Estos entornos ofrecen oportunidades para el contacto con otros animales, tanto domésticos como silvestres, aumentando potencialmente el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, como la brucelosis. Dentro de este marco, al considerar al perro como portador de *Brucella canis*, los perros callejeros representan un riesgo potencial de infección tanto para otras mascotas como para las personas que comparten su entorno (66).

Además, la presencia de estos entornos podría tener implicaciones en la propagación de enfermedades dentro de la población canina local. Esta consideración del entorno físico circundante es fundamental para comprender la epidemiología y la dinámica de la brucelosis canina, así como para diseñar estrategias efectivas de control y prevención en comunidades donde los perros tienen acceso a estos entornos. En la mayoría de los animales positivos sus tutores manifestaron las facilidades que tenían sus mascotas para

circular libremente en las calles, teniendo un modelo de crianza callejero. Las enfermedades en perros con dueños responsables son más fáciles de gestionar (transmisibilidad reducida), en comparación con los perros callejeros, ya que estos últimos tienen más probabilidades de entrar en contacto con otros perros infectados y luego propagar el agente patógeno(67). Los perros callejeros representan un riesgo de infección tanto para las personas como para otros animales(67,68). Por consiguiente, resulta crucial que las estrategias de diagnóstico abarquen también a las poblaciones de perros callejeros, con el objetivo de establecer la prevalencia de la infección y llevar a cabo intervenciones efectivas para controlar *Brucella canis* en estos grupos vulnerables.

El diagnóstico temprano y preciso de la brucelosis canina es crucial para controlar la enfermedad y prevenir su transmisión a humanos. Sin embargo, las pruebas actuales no siempre son simples, rápidas y precisas. Basándose en la molécula inmunodominante rLPS, se han desarrollado nuevas herramientas para el serodiagnóstico en laboratorio y campo, utilizando plataformas ELISA y de flujo lateral (69). El ELISA es altamente efectivo en el diagnóstico de brucelosis canina, con alta sensibilidad y especificidad (100% y 98,8% respectivamente), aunque su alto costo puede limitar su uso (36).

En Brasil, un estudio con ELISA utilizando extracto bacteriano soluble en calor como antígeno mostró una sensibilidad del 91,18%, especificidad del 100%, y precisión del 96,47% (70). Otro estudio, usando extracto de células bacterianas completas, logró una sensibilidad del 95% y especificidad del 91% (71). La alta concordancia del ELISA con otros métodos de diagnóstico fue confirmada en un estudio a ciegas con 280 sueros, demostrando su utilidad en el diagnóstico preciso y estudios epidemiológicos (71). El iELISA es ideal para diagnosticar *Brucella canis* debido a su alta sensibilidad y especificidad. (8,72).

El iELISA, con sensibilidad del 98,6% y especificidad del 99,5%, es eficaz para detectar infecciones crónicas con baja carga bacteriana (33). Al basarse en la detección de anticuerpos contra el antígeno rLPS de *B. canis*, el iELISA supera las limitaciones de pruebas directas como cultivo bacteriano y PCR (33). Además, es ideal para confirmar resultados de pruebas iniciales como el RSAT y el AGID, reduciendo falsos positivos y negativos (73,74).

La respuesta serológica a *B. canis* comienza entre la tercera y cuarta semana post-exposición con un aumento en los niveles de IgM, extendiéndose hasta la semana 12

(9,32). Pruebas serológicas pueden arrojar falsos negativos antes de la seroconversión o en infecciones crónicas (9,19). La elección de la técnica serológica es crucial para detectar infecciones recientes o crónicas. A pesar de su efectividad, la disponibilidad del ELISA en laboratorios veterinarios de muchos países del tercer mundo sigue siendo limitada.

En cuanto a resultados indeterminados o sospechosos en los ensayos ELISA pueden surgir debido a una variedad de factores, estos incluyen errores en la técnica de la prueba, como una preparación incorrecta o una ejecución inadecuada del protocolo, además la calidad de las muestras puede influir significativamente, especialmente si están contaminadas o no se han almacenado correctamente, las condiciones ambientales, como la temperatura y la humedad durante el ensayo, también pueden afectar la fiabilidad de los resultados, en conjunto, estas variables pueden dificultar la interpretación precisa de los resultados y generar incertidumbre sobre la presencia real de la enfermedad (75).

Las pruebas serológicas pueden mostrar resultados indeterminados cuando se realizan antes de la seroconversión o durante infecciones crónicas, períodos en los cuales los niveles de anticuerpos pueden estar por debajo del umbral de detección de las pruebas, esto subraya la importancia de seleccionar la técnica serológica adecuada para detectar de manera efectiva tanto infecciones recientes como crónicas, considerando la variabilidad en la respuesta de los anticuerpos después de la exposición inicial al agente infeccioso (9,19).

Tratar los resultados indeterminados como negativos implica adoptar una postura cautelosa para evitar omitir posibles casos de enfermedad, esto significa clasificar como negativos aquellos resultados que podrían ser positivos, pero son inciertos, esta medida busca proteger la salud de los perros y de sus dueños al tomar medidas preventivas proactivas contra la propagación de enfermedades, incluso cuando la certeza no es absoluta. Prioriza la seguridad y la prevención, reduciendo los riesgos asociados con la presencia de enfermedades en la población canina.

La variable sexo también fue evaluada mediante la técnica de Elisa, mostrando una seropositividad del 10,1% (7/69) en machos y del 18.8% (9/48) en hembras. Este hallazgo difiere con otros estudios, como el realizado en Chorocopte (Cañar), donde se observó una prevalencia del 55% (11/20) en hembras frente al 45% (9/20) en machos, pero esta diferencia tampoco sugiere una predisposición clara por sexo (64). Es así que se han presentado trabajos con incidencias más altas en hembras (63,65,76,77).

Sin embargo, es esencial tener en cuenta que, aunque la infección en machos no muestra una mayor prevalencia, estos pueden constituir una fuente relativamente más importante para la transmisión de la enfermedad, esto se debe a la capacidad de la bacteria para alojarse en la próstata, lo que dificulta su tratamiento (48). Así mismo en un estudio en perros con acceso al relleno sanitario del cantón Cuenca, la prevalencia de *B. canis* es más alta en hembras que en machos, lo cual podría deberse a la afinidad que la bacteria tiene por los órganos reproductores de las hembras durante la gestación, además un solo macho tiene la capacidad de infectar y reinfectar a varias hembras, lo que podría influir en esta diferencia de prevalencia entre los géneros (78). En un estudio realizado en barrios de Latacunga (Ecuador), se identificó que el 4% de los perros machos resultaron positivos en el estudio, además, se observó una mayor presencia de perros machos en comparación con las hembras, con un total de 48 machos y 27 hembras, este hallazgo subraya la importancia de los perros machos como una potencial fuente de transmisión de la enfermedad, ya que la bacteria puede permanecer en la próstata (79). En un estudio realizado en Nigeria el autor señala que el sexo representa un factor de riesgo, sugiriendo que las hembras son más vulnerables debido a su capacidad para aparearse con múltiples machos durante el estro (16). Mientras que un factor contribuyente importante para las tasas más altas en las hembras podría ser que un solo perro macho, si está infectado, se utiliza para aparear diferentes hembras, puede transmitir la infección a través del semen infectado (80). Sin embargo, también se ha demostrado que el eritritol, un ácido polihídrico que se encuentra en mayor concentración en las placentas y los fluidos fetales de las hembras que en las vesículas seminales y los testículos de los machos, puede ser responsable de que las hembras sean más susceptibles que los machos (81). En animales callejeros muestran una mayor incidencia de enfermedades, posiblemente debido a su estado de vulnerabilidad y la falta de acceso a una alimentación adecuada (48). Estos resultados indican una variabilidad significativa en la prevalencia de la infección por *B. canis* entre diferentes ubicaciones, entornos y subrayan la importancia de considerar diversos aspectos en su estudio.

Se ha observado una mayor frecuencia de comportamientos reactivos en perros que superan el año de edad o están en su etapa reproductiva (82,83), estos hallazgos son consistentes con los resultados de nuestro estudio donde se muestra una mayor incidencia de casos positivos en el rango de edad de 1 a 3 años, momento en el cual los caninos están en plena actividad sexual y, por ende, podrían manifestar comportamientos reactivos con

mayor frecuencia. En comparación con un estudio realizado en la Parroquia Belisario Quevedo (Ecuador) se identificó un caso positivo en perros menores de 1 año, lo que equivale al 1% de esta cohorte, además la prevalencia aumentó al 5% en perros de 1 a 3 años valores inferiores a los encontrados en nuestro estudio, así mismo se menciona que los caninos salen de casa de manera habitual (63). En refugios de Cuenca la seroprevalencia encontrada en esta investigación según la edad fue mayor en animales adultos 9% (7/78) seguida por la juvenil 6% (2/36) y finalmente los geriátricos 2% (1/52) (84). Por otro lado, en la provincia de Cotopaxi, (Ecuador) se muestrearon 200 perros de ambos sexos utilizando las variables de sexo y edad mediante la prueba rápida Brucella Ab Test Kit revelando una prevalencia del 0% en los perros evaluados, no se observaron diferencias significativas en factores de riesgo como la edad y el sexo, indicando buenas condiciones de vida, convivencia segura con otros animales, adecuado consumo de alimentos y agua, y cuidado de la salud (85). En la parroquia Chorocopte (Cañar) la prevalencia en canes adultos de 1 -7 años tuvo un 75 % (15 casos) seguido de caninos menores a un año 15% (3 casos) y caninos de 7-12 años con un 10% (2 casos) (64). En un estudio realizado en dos distritos de la provincia del Callao (Perú), el grupo etáreo con mayor porcentaje de positivos aparentemente fue el más joven (53/312) (1-4 años) aunque sin haber diferencia estadística significativa con respecto a los otros dos grupos (5-8 años) y (9-15 años) (1). Además, en estudios realizados en centros de rescate y adopción animal, como el de la ciudad de Huancayo (Perú), se observó que los caninos de edades comprendidas entre los 8 meses y los 7 años (adultos) presentaron una prevalencia del 24.48%, mientras que los canes jóvenes no mostraron ningún caso positivo, lo que sugiere que los canes adultos tienen una prevalencia mayor en comparación con los jóvenes (60). Los perros pueden contraer la infección en cualquier etapa de su vida, si bien existe un riesgo intrínseco asociado a la madurez sexual, que se ve agravado por factores extrínsecos como la actividad sexual o reproductiva (1). Este patrón concuerda con los hallazgos de este estudio, donde todas las perras que dieron positivo eran sexualmente maduras y tenían antecedentes de actividad sexual. Es importante destacar que estos datos proporcionan una perspectiva significativa sobre la relación entre la edad y la incidencia de comportamientos reactivos en los perros, lo cual puede ser de utilidad tanto en la comprensión de su comportamiento como en la implementación de estrategias de manejo y prevención adecuadas.

La seropositividad en cuanto a la raza mostró un 13,8% (9/65) en perros de raza definida y un 13,5% (7/52) en perros mestizos, según la técnica de ELISA. En el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí (Ecuador) valores que difieren de los encontrados en nuestro estudio, el porcentaje total de casos positivos fue mestiza (8,86%), otras razas (3,16%) (65). De igual manera en refugios del cantón Cuenca (Ecuador), se encontraron valores similares, el porcentaje de seropositividad fue del 6% tanto en animales mestizos (9/149) como en animales de raza (1/17) (84). Los perros de raza mestiza recogidos de las calles o áreas rurales tienen una mayor probabilidad de infectarse debido a su exposición a otros animales cuyo estado de salud es desconocido y que provienen de zonas endémicas (86). Es importante destacar que la enfermedad afecta a todas las razas de perros domésticos, y los criaderos representan una fuente potencial de propagación de *B. canis*, esto se debe a que los animales están en contacto cercano y se mueven constantemente para la cría o la venta, sin someterse a pruebas de salud antes de su traslado (87).

En cuanto a los factores asociados a la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*, se consideraron varias variables. Respecto al estado reproductivo, aunque el 13,5% de los animales enteros y el 16,7% de los esterilizados mostraron resultados positivos, no se encontró una asociación significativa, este hallazgo sugiere que la esterilización como medida de control reproductivo no influye de manera considerable en la susceptibilidad a la infección por *Brucella canis* en nuestra muestra. Así mismo en perros de un refugio ubicado en el cantón Sta. Rosa de 11 animales positivos el 9,1% de los caninos positivos estaban esterilizados, mientras que el 90,9% no lo estaban (88). En un estudio realizado en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú, se registraron 13 casos de brucelosis canina en caninos no esterilizados y 1 caso en un canino esterilizado (89). Por otra parte en un estudio sobre la seroprevalencia de *Brucella canis* en perros de un refugio en Bogotá, se utilizó inmunocromatografía y PARP-2ME, de los 51 perros analizados, solo uno de los 44 esterilizados resultó positivo, mientras que no se encontraron casos entre los 7 no esterilizados, esto probablemente se deba a la presencia de falsos negativos y a que es posible que más caninos estuvieran infectados antes de ser esterilizados, ya que la infección podría encontrarse en una fase temprana y no ser detectada por las pruebas (17). La esterilización juega un papel crucial en la prevención de problemas de salud, como la brucelosis, una enfermedad de origen animal que puede transmitirse a los humanos, es

esencial destacar que el conocimiento limitado sobre este tipo de enfermedades conduce a una falta significativa de medidas preventivas, si no a su completa ausencia (90).

La variable área de vivienda mostró una diferencia notable: el 33,3% de los animales de zona rural fueron positivos en comparación con solo el 9,4% de los de zona urbana, indicando una mayor probabilidad de positividad en perros de zonas rurales. Así mismo en un estudio en refugios del cantón Cuenca se obtuvo una mayor seroprevalencia en animales provenientes de zona rural con el 22% de seropositividad (10/45) (84). Por otra parte en un estudio en perros atendidos en la clínica veterinaria DOGOPETS en Guayaquil en cuanto a la presencia de *Brucella spp.* según la procedencia del perro, los resultados mostraron que la mayor incidencia de la enfermedad provino de procedencia urbana siendo identificado en el 18,6% del total de las muestras frente al 10% provenientes de procedencia rural (76). El desmedido incremento de la población canina en las zonas periurbanas podría aumentar el riesgo de infección en personas y otros animales, debido a la limitada vigilancia epidemiológica (68).

Además, la presencia de problemas reproductivos fue un factor importante, con el 75,0% de los animales con antecedentes de abortos resultando positivos frente al 11,5% de los perros sin alteraciones reproductivas, sugiriendo una fuerte asociación entre problemas reproductivos y la infección. Así mismo en un estudio en el sector de Ancholag, en el cantón Cayambe (Ecuador), se encontró un 42,42% (n=14) de un total de 33 hembras muestreadas que han tenido abortos, estos resultados indican una alta incidencia de problemas reproductivos o de manejo de las perras gestantes (91). El aborto en perras infectadas con *B. canis*, ocurre predominantemente entre los días 45 y 55 de la gestación en el 75% de los casos, esto sugiere que al igual que en otros mamíferos, el aborto se desencadena por la presencia de eritritol en los tejidos placentarios, estimulando el crecimiento de *Brucella* (92).

Por último, al comparar los valores promedio del hematocrito y los sólidos totales entre los casos positivos y negativos, no se encontraron diferencias significativas, indicando que estos parámetros clínicos no están relacionados con la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*.

Existen múltiples estudios realizados para la determinación de brucelosis en caninos estableciendo el poder de la *Brucella abortus* con potencial de infectar a los perros a través de diferentes vías como la ingesta de membranas o fluidos fetales o de fetos

abortados (93). Investigaciones confirmaron la transmisión de *B. abortus* del ganado a los perros, con tres casos positivos registrados, estos perros residían en proximidad a ganado lechero infectado con brucelosis (94). En caninos de municipios del norte de Antioquia durante el 2019 se encontró una seroprevalencia de *B. abortus* en caninos del 7% en regiones ganaderas en el país y se determinó que las perras positivas a Rosa de Bengala tienen 30 veces más posibilidad de presentar abortos que las de serología negativa (56).

En el presente estudio de igual manera se detectó la existencia de anticuerpos contra *B. abortus* en perros de la cabecera cantonal del cantón Celica mediante el test de Rosa de Bengala, de la totalidad de 117 animales muestreados, se detectó un animal positivo para anticuerpos de *Brucella abortus*, equivalente al 0,9% (1/117), sugiriendo que la población canina de esta área, aunque en un mínimo porcentaje ha estado expuesta a la bacteria en algún momento de su vida.

Un estudio realizado en perros que consumen desechos provenientes de camales en Ecuador reveló que el 35% de los 240 perros analizados presentaban una seropositividad de *Brucella* mediante la prueba de Rosa de Bengala, la mayoría de estas muestras correspondían a perros que se alimentaban con restos de animales sacrificados y mantenían contacto con animales de granjas dentro del área de estudio (46). Por otra parte, en un estudio realizado en zonas urbanas y rurales del Ecuador durante el año 2019 se obtuvo una prevalencia de 8,9% y 4,0% para brucelosis causada por *B. abortus*, usando Rosa de Bengala y ELISA, respectivamente, en el estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las seroprevalencias, la investigación determinó que el patógeno está indistintamente presente en perros de zonas rurales y urbanas, lo que indica el potencial rol de los perros en la transmisión y propagación de brucelosis debido al contacto cercano entre perros y humanos (95). Estos hallazgos difieren con los datos informados en Santa Isabel y Paute donde se registró una prevalencia del 0% al medir antígenos para *Brucella abortus* de animales muestreados en campañas masivas de esterilización utilizando una prueba de ELISA indirecta, las muestras fueron recolectadas en áreas dedicadas a la ganadería, donde los perros interactúan directamente con estas actividades de producción animal (90).

El ganado bovino actúa como el hospedero específico de la bacteria, excretándola a través de diversos medios como la leche, fetos abortados, membranas fetales, flujo vaginal y

orina, lo que ocasiona una contaminación ambiental significativa (14). Según las condiciones apropiadas de humedad y temperatura, la bacteria puede persistir en el suelo durante un período que oscila entre 60 y 144 días (96).

Cuando los perros se alimentan o interactúan con tejidos fetales de ganado infectado, pueden dispersarlos por el entorno, contaminando pastizales, fuentes de agua y suelos (97). Además, pueden infectarse y excretar la bacteria *Brucella spp.* a través de la orina o las heces, lo que contribuye a su propagación (14,98). Esto convierte a los perros en un factor potencial en la transmisión y expansión de la infección, especialmente considerando su rango de movimiento en el área.

De acuerdo con las investigaciones, la infección de perros por *Brucella* tipo lisa es poco frecuente, pero no está fuera de lo posible. Se encontró que los perros que reaccionaron a este tipo de *Brucella* habían estado en contacto con ganado bovino infectado con brucelosis o vivían en áreas urbanas donde convivían con perros provenientes de zonas rurales (14).

La seropositividad en cuanto al sexo, según la técnica de Rosa de Bengala, mostró que de los 69 machos examinados, solo uno (1,4%) resultó positivo para la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*, mientras que ninguna de las 48 hembras analizadas arrojó resultados positivos. En un estudio realizado en fincas ubicadas en el cantón Chone (Ecuador), se examinaron 103 animales donde hubo 10 casos positivos en hembras y 7 casos positivos en machos valores superiores a los encontrados en nuestro estudio, se señala que entre los factores de riesgo destacan la exposición a entornos contaminados y la ingesta de alimentos contaminados, así como la ingestión de restos de abortos de animales infectados (99). Así mismo en un estudio realizado en el norte de Antioquia (Colombia) se analizaron 214 animales de los cuales 15 hembras resultaron positivas, en cuanto a los machos todos resultaron negativos, se identificaron como elementos de riesgo el contacto directo con el ganado vacuno, pasar largos períodos al aire libre y tener suelo de tierra dentro de la vivienda (56). En un estudio en perros que conviven con vacas en establos lecheros se analizaron a 63 animales, de las 19 hembras una resultó positiva 5,26% y de los 44 machos igualmente resultó positivo uno 2,27% (100). Por otro lado, en un estudio en perros en contacto con zona rural se encontraron valores superiores a los de nuestro estudio, se encontró que los machos tenían una prevalencia de *Brucella* del 36%, mientras que en las hembras fue del 16%, sin diferencias significativas entre ambos

grupos (14). En un estudio en Sao Miguel dos Campos, Estado de Alagoas, Nordeste del Brasil de los 31 animales que dieron positivo para *B. abortus*, el 58,06% (18) eran machos y el 41,93% (13) hembras, de las 13 hembras que reaccionaron positivamente al AAT, solo 1 (7,69%) tenía antecedentes de aborto, lo que concuerda con la literatura que señala que la brucelosis canina puede causar abortos, especialmente en la etapa final del embarazo (101).

La seropositividad en cuanto a la edad, según la técnica de Rosa de Bengala, mostró que de los 74 animales de 1 a 3 años ninguno resultó positivo. Se observó un caso positivo (3,7%) entre los 27 perros de 3 a 6 años, y no se registraron casos positivos en los perros de 6 años en adelante. En un estudio realizado en fincas del cantón Chone (Ecuador), la mayor cantidad de muestras positivas se concentran en las edades de 0 a 3 años con 12 casos y el 71% de prevalencia, los perros de 4 a 7 años muestran 4 casos positivos con un 23 % de presencia de la bacteria, seguido de perros de 8 a más años que muestran 2 casos positivos con el 6 % del total de animales que mantienen una presencia de *Brucella* tipo lisa, los factores de riesgo incluyen la exposición a entornos externos posiblemente contaminados y la ingesta de productos alimenticios y restos de abortos de animales que son seropositivos, mencionan que presentan mayor prevalencia en perros menores a tres años posiblemente a causa del consumo de leche o comida contaminada con este patógeno (99). Diversos autores coinciden en que la edad no es un factor predisponente, aunque se observa con mayor frecuencia en perros que están en su etapa de mayor actividad reproductiva (1,89,102).

La seropositividad en cuanto a la raza, según la técnica de Rosa de Bengala, mostró un caso positivo (1.5%) entre los 65 perros de raza definida, mientras que no se detectaron casos positivos entre los perros mestizos. En un estudio en fincas del cantón Chone (Ecuador), se observaron valores elevados de casos positivos para *Brucella* tipo lisa en perros mestizos, con un total de 14 casos (87%), se registraron casos en razas como Dóberman, Golden Retriever y Rottweiler, con un caso en cada una, los factores de riesgo identificados incluyen la falta de supervisión médica, el contacto con entornos contaminados y la ingestión de productos alimenticios y restos de abortos de animales infectados (99). Estos hallazgos difieren con los datos informados en Santa Isabel y Paute donde se registró una prevalencia en cuanto a la raza del 0 % al medir antígenos para *Brucella abortus* de animales muestreados en campañas masivas de esterilización utilizando una prueba de ELISA indirecta, se sugiere que la prevalencia se debe a que los

animales provienen de entornos donde son cuidados tanto por sus propietarios como por personas que desempeñan roles de tutela, lo que sugiere que no son animales ferales (90).

El tipo racial y la edad no son factores predisponentes de la brucelosis canina (82,83,92). Los perros pueden infectarse en cualquier etapa de su vida, aunque existe una mayor predisposición en perros jóvenes, ya que en éstos ocurre una mayor actividad reproductiva (103). La brucelosis canina es una enfermedad que se ha observado principalmente en perros y ocasionalmente en humanos, siendo los perros los únicos capaces de transmitirla. Inicialmente, se creía que solo los Beagles eran susceptibles, pero estudios han demostrado que otras razas, así como los mestizos, también pueden contraer la infección de forma natural (72,104,105).

En el análisis de los factores asociados a la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*, varias variables fueron consideradas. Respecto al estado reproductivo, se observó que solo el 0,9% (1/111) de los animales enteros fueron positivos, sin positivos entre los esterilizados, aunque no se encontró una asociación significativa.

La variable área de vivienda mostró diferencias notables: el 4,8% (1/21) de los animales de zona rural resultaron positivos, en contraste con ningún positivo entre los perros de zona urbana, sugiriendo que no hay una asociación significativa entre la zona rural y la positividad. Así mismo en un estudio sobre Seroprevalencia de brucelosis y fiebre Q asociada con perros callejeros de áreas urbanas y rurales de Ecuador durante el año 2019 se encontró que los patógenos responsables de la brucelosis están presentes en perros tanto de áreas urbanas como rurales, sugiriendo que los perros podrían contribuir significativamente a la transmisión y propagación de la brucelosis debido a su estrecho contacto con los humanos (95). Por otra parte, en un estudio sobre Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en perros en contacto con zona rural, los perros de zonas rurales que resultaron seropositivos a *B. abortus* vivían cerca del ganado vacuno diagnosticado como positivo y podían acceder a fetos abortados y placentas de vacas infectadas y en cuanto a los perros de áreas urbanas estos convivían con otros perros que frecuentemente visitaban el campo (14).

En relación con los problemas reproductivos, no se encontraron casos positivos entre los animales con abortos, y solo el 0,9% (1/113) de los perros sin alteraciones reproductivas fueron positivos, sin una correlación significativa.

Además, al comparar los valores promedio del hematocrito y los sólidos totales entre los casos positivos y negativos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, lo que sugiere que estos parámetros clínicos no están relacionados con la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

CONCLUSIONES

Se observó la presencia de animales positivos a anticuerpos contra *Brucella canis* en la ciudad de Celica. La prevalencia determinada mediante la técnica de ELISA fue del 14% (16/117), lo que sugiere una circulación significativa de la bacteria en la población canina de la zona.

En contraste, la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* determinada mediante la técnica de Rosa de Bengala fue considerablemente menor, detectándose solo un caso positivo, equivalente al 0,9% (1/117), lo que indica una escasa transmisión de la bacteria desde su reservorio natural.

No se encontró una asociación significativa entre el sexo de los animales y la presencia de anticuerpos contra *Brucella spp.* mediante ninguna de las dos técnicas. Sin embargo, con la técnica de ELISA, se observó una mayor prevalencia en hembras (18,8%) en comparación con machos (10,1%).

La edad no mostró una relación significativa con la presencia de anticuerpos en ambas técnicas. Con ELISA, las tasas de positividad fueron similares en todos los grupos de edad: 14,9% en perros de 1 a 3 años, 11,1% en aquellos de 3 a 6 años, y 12,5% en animales mayores de 6 años. Con Rosa de Bengala, solo un perro de 3 a 6 años fue positivo (3,7%).

No hubo diferencias significativas en la prevalencia de anticuerpos entre perros de raza definida y mestizos, según los resultados de ambas técnicas. Los valores obtenidos fueron similares entre estos grupos.

El estado reproductivo tampoco mostró una asociación significativa con la presencia de anticuerpos. Con ELISA, los animales enteros presentaron una prevalencia del 13,5%, mientras que los esterilizados alcanzaron un 16,7%. Con Rosa de Bengala, solo un animal entero fue positivo, y ninguno de los esterilizados mostró anticuerpos.

La técnica de ELISA mostró una mayor prevalencia de anticuerpos en perros de áreas rurales (33,3%) en comparación con los de áreas urbanas (9,4%), sugiriendo un mayor riesgo de infección en áreas rurales. En contraste, la técnica de Rosa de Bengala detectó una prevalencia muy baja (4,8%) en áreas rurales y ninguna en áreas urbanas, confirmando que no hay una asociación significativa entre el área de vivienda y la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

Con la técnica de ELISA, se observó una asociación significativa entre problemas reproductivos y la presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*, con una prevalencia del 75% en animales con problemas de abortos y del 11,5% en aquellos sin alteraciones reproductivas. Con Rosa de Bengala, no se encontraron casos positivos en ninguna de las categorías.

No hubo diferencias estadísticas significativas en los valores promedio de hematocrito y sólidos totales entre casos positivos y negativos con ninguna de las técnicas, indicando que estos parámetros no están relacionados con la presencia de anticuerpos.

Los resultados de este estudio han sido socializados con los habitantes del cantón Celica con el objetivo de implementar medidas de prevención y control. Este estudio proporciona una visión detallada de la seroprevalencia de brucelosis canina en la cabecera cantonal del cantón Celica y destaca la importancia de considerar factores como el área de vivienda y problemas reproductivos en el manejo y control de la enfermedad.

El descubrimiento de un caso positivo de *Brucella abortus* en un perro en el cantón Celica subraya la importancia de fortalecer las medidas de control y prevención para mitigar la propagación de la enfermedad. Este hallazgo es relevante tanto para la salud pública como para la salud animal en la región, lo que requiere una mayor concienciación sobre los riesgos de la interacción entre perros y ganado infectado.

La información obtenida puede ser utilizada por las autoridades veterinarias y de salud pública para desarrollar estrategias de control y prevención adecuadas. Además, sensibiliza a los propietarios de mascotas y a la comunidad en general sobre la importancia de la vigilancia y el manejo de enfermedades infecciosas en los animales domésticos. La mayor prevalencia en áreas rurales y en animales con problemas reproductivos destaca la necesidad de enfocarse en estas poblaciones para reducir la incidencia de brucelosis canina.

RECOMENDACIONES

Aunque nuestros resultados se fundamentan en una muestra limitada y en la falta de detalles clínicos exhaustivos, sugieren la posibilidad de que los perros del cantón Celica estén infectados con *Brucella spp.*, dado el espectro de factores de riesgo identificados. Se insta a llevar a cabo investigaciones adicionales para profundizar en la epidemiología de la brucelosis en perros y evaluar sus posibles implicaciones zoonóticas en el país. Sugerir el aumento del tamaño de muestra en futuros estudios para mejorar la representatividad y aumentar la sensibilidad de la detección de casos y considerar la inclusión de áreas periféricas y comunidades circundantes para obtener una imagen más completa de la situación epidemiológica.

Explorar el uso de métodos diagnósticos más avanzados y sensibles en estudios futuros, como técnicas moleculares, para detectar la presencia de la bacteria con mayor precisión.

Desarrollar campañas de concienciación para motivar la participación activa de la comunidad en estudios de muestreo, destacando la importancia de estos esfuerzos para la salud pública y animal y proporcionar información clara y accesible sobre los beneficios de la investigación y cómo la colaboración de la comunidad puede contribuir a un control más efectivo de la brucelosis canina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramírez H, Calle S, Echevarría L, Morales S. Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la provincia constitucional del Callao. *Rev Inv Vet Perú* [Internet]. 2006 [cited 2024 Mar 19];17(1):39–43. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838844007>
2. Lucero NE, Ayala SM, Escobar GJ, Jacob NR. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect* [Internet]. 2008 Apr [cited 2024 Mar 20];136(4):496. Available from: </pmc/articles/PMC2870831/>
3. Jasrotia N, Gulagi N, Patra MK, Kujur A. Current status of canine brucellosis in India. *The Indian Journal of Animal Reproduction* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 11];42(1). Available from: <https://www.researchgate.net/publication/367077718>
4. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales Tercera edición Volumen I. Bacteriosis y Micosis. 2001;
5. Krueger WS, Lucero NE, Brower A, Heil GL, Gray GC. Evidence for Unapparent *Brucella canis* Infections among Adults with Occupational Exposure to Dogs. *Zoonoses Public Health* [Internet]. 2014 Nov 1 [cited 2024 Mar 20];61(7):509–18. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/zph.12102>
6. De Massis F, Sacchini F, Petrini A, Bellucci F, Perilli M, Garofolo G, et al. Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures [Internet]. Vol. 58, *Veterinaria Italiana*. 2022 [cited 2024 Jul 11]. Available from: <https://www.veterinariaitaliana.izs.it/index.php/VetIt/article/view/2561/997>
7. Santos RL, Souza TD, Mol JP, Eckstein C, Paixão TA. Canine brucellosis: an update. *Front Vet Sci* [Internet]. 2021 Mar 2 [cited 2024 Mar 20];8:594291. Available from: </pmc/articles/PMC7962550/>
8. Wanke MM. Canine brucellosis. *Anim Reprod Sci*. 2004 Jul 1;82–83:195–207.
9. Hollett RB. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology*. 2006;66(3 SPEC. ISS.).

10. Monteiro KS, Melo TF. Brucelose canina: uma revisão de literatura. *Scire Salutis* [Internet]. 2020 [cited 2024 Jul 11];10(3). Available from: <http://doi.org/10.6008/CBPC2236-9600.2020.003.0009>
11. Kauffman LK, Petersen CA. Canine brucellosis: old foe and reemerging scourge [Internet]. Vol. 49, *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2019 [cited 2024 Jul 11]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561619300439?via%3Dihub>
12. Whatmore AM. Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009 Dec 1;9(6):1168–84.
13. McDermott J, Grace D, Zinsstag J. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *OIE Revue Scientifique et Technique* [Internet]. 2013 [cited 2024 Mar 26];32(1):249–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23837382/>
14. Sara MG, Lautaro PM, María PL, Carlos ME. Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en perros en contacto con zona rural: aspectos zoonóticos de la infección. *Analecta Vet* [Internet]. 2019 Dec 3 [cited 2024 Mar 19];39(2):038–038. Available from: <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/7309/9203>
15. Bonicatto P. Diagnóstico de brucelosis canina en la población de perros que concurren al centro de castración municipal de Tolosa, partido de La Plata, provincia de Buenos. 2018 [cited 2023 Jun 12]; Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/73664>
16. Comfort Ayoola M, Joseph Ogugua A, Oluwatoyin Akinseye V, Olu Joshua T, Folusho Banuso M, Julianah Adedoyin F, et al. Sero-epidemiological survey and risk factors associated with brucellosis in dogs in south-western Nigeria. *ajol.info* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jun 12]; Available from: <https://www.ajol.info/index.php/pamj/article/view/137567>
17. Laverde AJ, Restrepo D, Hernández D, Rodríguez JL, Sandoval IS. Seroprevalence of *Brucella canis* in canines from a dog shelter in Bogotá,

- Colombia. *Biomedica* [Internet]. 2021 [cited 2024 Mar 18];41(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34214267/>
18. Egloff S, Schneeberger M, Gobeli Brawand S, Krudewig C, Schmitt S, Reichler I, et al. *Brucella canis* infection in a young dog with epididymitis and orchitis. *Schweiz Arch Tierheilkd* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2023 Nov 25];160(12):743–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30516477/>
 19. Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. Vol. 59, *Canadian Veterinary Journal*. 2018.
 20. De Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: Review of *Brucella*-host interactions. Vol. 185, *American Journal of Pathology*. 2015.
 21. Carmichael LE, Zoha SJ, Flores-Castro R. Biological properties and dog response to a variant (M-) strain of *Brucella canis*. *Dev Biol Stand*. 1984;56.
 22. Ke Y, Wang Y, Li W, Chen Z. Type IV secretion system of *Brucella* spp. and its effectors. Vol. 5, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2015.
 23. Bowden RA, Cloeckert A, Zygmunt MS, Bernard S, Dubray G. Surface exposure of outer membrane protein and lipopolysaccharide epitopes in *Brucella* species studied by enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry. *Infect Immun*. 1995;63(10).
 24. Hensel ME, Negron M, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis in dogs and public health risk. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(8).
 25. Chacón-Díaz C, Altamirano-Silva P, González-Espinoza G, Medina MC, Alfaro-Alarcón A, Bouza-Mora L, et al. *Brucella canis* is an intracellular pathogen that induces a lower proinflammatory response than smooth zoonotic counterparts. *Infect Immun*. 2015;83(12).
 26. Giambartolomei GH, Zwerdling A, Cassataro J, Bruno L, Fossati CA, Philipp MT. Lipoproteins, not lipopolysaccharide, are the key mediators of the proinflammatory response elicited by heat-killed *Brucella abortus*. *J Immunol*. 2004;173(7).

27. Zhang H, Palma AS, Zhang Y, Childs RA, Liu Y, Mitchell DA, et al. Generation and characterization of β 1,2-gluco-oligosaccharide probes from *Brucella abortus* cyclic β -glucan and their recognition by C-type lectins of the immune system. *Glycobiology*. 2016;26(10).
28. Baldwin CL, Goenka R. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: Does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? Vol. 26, *Critical Reviews in Immunology*. 2006.
29. Angrimani DSR, Lúcio CF, Losano JDA, Brito MM, Silva Júnior RA, Keid LB, et al. The influence of canine brucellosis on morphofunctional features of epididymal spermatozoa: Case report. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2016;68(6).
30. Piao D, Wang H, Di D, Tian G, Luo J, Gao W, et al. MLVA and LPS characteristics of *Brucella canis* isolated from humans and dogs in Zhejiang, China. *Front Vet Sci*. 2017;4(DEC).
31. Chicaiza Pimboza JL. Prevalencia de *Brucella Canis* y factores asociados a caninos domésticos (*Canis familiaris*) en el Barrio San Pedro de Teneria de la Parroquia Pastocalle. 2019 [cited 2023 Jun 19]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5890>
32. Carmichael LE, Shin SJ. Canine brucellosis: A diagnostician's dilemma. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery-Small Animal*. 1996;11(3).
33. Lucero NE, Jacob NO, Ayala SM, Escobar GI, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol*. 2005;54(5).
34. Tobar Martínez DJ. Prevalencia de *Brucella canis* y factores asociados en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en la Comunidad San Agustín de Callo. 2019 [cited 2023 Jun 19]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6179>
35. Darbaz I, Ergene O. *Brucella canis* and public health risk. *Cyprus Journal of Medical Sciences [Internet]*. 2019 Apr 29 [cited 2023 Jun 19];4(1). Available from: <https://d2v96fxpocvxx.cloudfront.net/a6c507d0-c298-4e01-9874-771986926d20/pdfs/2019-004-001/cjms.2019.694/cjms-4-52-En.pdf>

36. Sofía Salgado Murillo. Evaluación de la prueba de aglutinación rápida en placa con 2 mercaptoetanol para el diagnóstico de *Brucella canis*. 2016 [cited 2023 Jun 20]; Available from: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/145089>
37. Miguel A. Guzmán Urrego; Maye Bernal Rivera; Las pruebas serológicas en el diagnóstico de la enfermedad infecciosa. *Revista de la Facultad de Medicina* [Internet]. 1999 Apr 1 [cited 2024 Jun 1];47(2):89–97. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/19446>
38. Suárez González I. Metodología Elisa para estudiar la estabilidad de medicamentos biotecnológicos. 2017 May 26 [cited 2023 Dec 4]; Available from: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/47150>
39. Abyntek. Tipos de ELISA, ¿conoces las diferencias? [Internet]. 2019 [cited 2023 Dec 4]. Available from: <https://www.abyntek.com/tipos-de-elisa/>
40. Montes I. Diagnóstico de la brucelosis. [Internet]. [date unknown] [cited 2024 May 31];1–3. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>
41. Felipe Díaz Herrera D, Cruz Santana Y, Cruz Sui O, Martín Alfonso D, Alfonso González MJ, Ortiz Losada E, et al. Desarrollo y evaluación del desempeño de una prueba rápida inmunocromatográfica para el diagnóstico de la brucelosis. *Rev Salud Anim*. 2015;37(2):105–11.
42. Kauffman LK, Bjork JK, Gallup JM, Boggiatto PM, Bellaire BH, Petersen CA. Early Detection of *Brucella Canis* via Quantitative Polymerase Chain Reaction Analysis. *Zoonoses Public Health*. 2014;61(1).
43. Phanse Y, Lueth P, Ramer-Tait AE, Carrillo-Conde BR, Wannemuehler MJ, Narasimhan B, et al. Cellular internalization mechanisms of polyanhydride particles: Implications for rational design of drug delivery vehicles. *J Biomed Nanotechnol*. 2016;12(7).
44. Boeri E, López G. Brucelosis canina. *Agrarias UNLZ*. 2016;3(1):3–6.

45. Stull JW, Bjorvik E, Bub J, Dvorak G, Petersen C, Troyer HL. 2018 AAHA Infection Control, Prevention, and Biosecurity Guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2018;54(6).
46. Molina Molina EJ, Mera Viera EH, Beltrán Romero CF, Armas Cajas JW, Cueva Salazar NM, Lascano Armas PJ, et al. Prevalencia de brucelosis en perros que consumen desechos provenientes de camales de bovinos en Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal [Internet].* 2018 May 30 [cited 2023 Nov 25];1(3). Available from: <https://www.revistaecuadorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/47>
47. De Azevedo SS, De C, Batista SA, Alves CJ, Clementino IJ. Ocorrência de anticorpos contra *Brucella abortus* em cães errantes da cidade de Patos, estado da Paraíba, Brasil. *Arq Inst Biol.* 2003;4:499–500.
48. Boeri E, Escobar GI, Ayala SM, Sosa-Estani S, Lucero NE. Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. 2008 [cited 2023 Nov 25]; Available from: <http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v68n4/v68n4a04.pdf>
49. Baek BK, Lim CW, Rahman MS, Kim CH, Oluoch A, Kakoma I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research [Internet].* 2003 Oct [cited 2023 Nov 25];67(4):312. Available from: </pmc/articles/PMC280718/>
50. Forbes L. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1990;
51. Nicola A., Elena S. Manual de diagnóstico serológico. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) Buenos Aires, Argentina. 2009;p.95.
52. Mateu-de-Antonio EM, Martín M, Casal J. Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. *J Vet Diagn Invest [Internet].* 1994 Apr 1 [cited 2023 Nov 25];6(2):257–9. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063879400600220?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
53. Bravo Benavides D, Jaramillo R, Encalada D. Valoración económica del recurso hídrico de la microcuenca Quillusara en el cantón Celica- Ecuador. *Ciencia y*

- Tecnología [Internet]. 2019 Jun 30 [cited 2024 May 31];12(1):43–9. Available from: <https://revistas.uteq.edu.ec/index.php/cyt/article/view/314/391>
54. Ortiz María; Acosta Miguel; Prueba de Rosa de Bengala y/o Tarjeta en el Diagnóstico de Brucelosis Bovina [Internet]. 2014 [cited 2024 May 31]. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf>
 55. CHEMTEST™. VETLIS® Brucella iELISA caninos. [cited 2023 Nov 16]; Available from: <https://www.chemtest.net/elisa-caninos.php>
 56. Sánchez Moreno MI, Gamarra Rueda R, García Naranjo R, Pérez García J, Sánchez Jiménez MM. Presencia de infección por *Brucella abortus* en caninos del norte de Antioquia (Colombia). *Rev Med Vet (Bogota)* [Internet]. 2024 Jan 11 [cited 2024 Mar 19];1(48):11. Available from: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv/vol1/iss48/11>
 57. López Diez L, Ortiz Román L, Sanchez Nodarse R, Sanabria Gonzalez W, Henao Correa E, Olivera Angel M. Seroprevalencia de *Brucella canis* y *Leptospira* spp. en caninos de la ciudad de Medellín, Colombia. *Rev Vet Zootec (On Line)* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 May 3];14(1):34–48. Available from: <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/3204>
 58. Bello de Oliveira AL, de Macedo GC, Rosinha GMS, Melgarejo JL, Alves AGL, Barreto WTG, et al. Detection of *Brucella* spp. in dogs at Pantanal wetlands. *Braz J Microbiol* [Internet]. 2019 Jan 23 [cited 2024 May 4];50(1):307–12. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-018-0006-5>
 59. Weinborn A. R, Zanelli M, Liendo C, Celis F, Olmedo S, Sánchez F, et al. Brucelosis en caninos vagabundos de un sector de la ciudad de Talca, Chile. *Rev Investig Vet Perú* [Internet]. 2023 [cited 2024 May 6];34(4):25951. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172023000400018&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 60. Castro L. Prevalencia de brucelosis canina en los centros de rescate y adopción animal de la ciudad de Huancayo-2022. Repositorio Institucional - UPLA [Internet]. 2023 Oct 20 [cited 2024 May 3]; Available from: <http://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/6484>

61. Santamaría Tenesaca FC. Prevalencia de *Brucella canis* en perros domésticos en el barrio Salache, provincia de Cotopaxi. 2018 [cited 2024 May 4]; Available from: <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5224>
62. Toasa Cela M de los Á. Prevalencia de Brucelosis y factores asociados en (*Canis familiaris*) en el barrio el Boliche de la parroquia Pastocalle. 2018 [cited 2024 May 5]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8722>
63. Arauz Nolivos OF. Prevalencia de *Brucella canis* en perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) en la parroquia Belisario Quevedo del cantón Latacunga. 2024 [cited 2024 May 9]; Available from: <https://repositorio.utc.edu.ec/jspui/bitstream/27000/11906/1/PC-%20003207.pdf>
64. Delgado Agualema CA. Prevalencia de brucelosis (*Brucella spp*) en caninos (*Canis familiaris*), mediante el método de ELISA cuantitativo. 2021 [cited 2024 Mar 18]; Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21001>
65. Páez Calvopiña KP. Prevalencia de brucelosis canina en el centro de esterilización canina y felina del cantón Pujilí - Ecuador. 2021 [cited 2024 May 4]; Available from: <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8889/1/MUTC-001242.pdf>
66. Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW. *Brucella canis* infectivity rates in stray and pet dog populations. *Am J Public Health* [Internet]. 1976 [cited 2024 Mar 19];66(9):889. Available from: [/pmc/articles/PMC1653450/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1653450/)
67. Dreer MK de P, Gonçalves DD, Caetano IC da S, Gerônimo E, Menegas PH, Bergo D, et al. Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Paraná, Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* [Internet]. 2013 [cited 2024 Mar 19];19(1):23. Available from: [/pmc/articles/PMC3849923/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23849923/)
68. Smith LM, Hartmann S, Munteanu AM, Villa PD, Quinnell RJ, Collins LM. The effectiveness of dog population management: a systematic review. *Animals (Basel)* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2024 Mar 19];9(12). Available from: [/pmc/articles/PMC6940938/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6940938/)
69. Cortina ME, Novak A, Melli LJ, Elena S, Corbera N, Romero JE, et al. Development of improved enzyme-based and lateral flow immunoassays for rapid and accurate serodiagnosis of canine brucellosis. *Vet Microbiol* [Internet]. 2017

- [cited 2024 May 6];208:174–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.08.005>
70. Daltro de Oliveira MZ, Vale V, Keid L, Freire SM, Meyer R, Portela RW, et al. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. *Res Vet Sci*. 2011 Jun 1;90(3):425–31.
 71. Barrouin-Melo SM, Poester FP, Ribeiro MB, de Alcântara AC, Aguiar PHP, Nascimento IL, et al. Diagnosis of canine brucellosis by ELISA using an antigen obtained from wild *Brucella canis*. *Res Vet Sci* [Internet]. 2007 Dec 1 [cited 2024 May 6];83(3):340–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528807000501>
 72. Flores Castro R, Segura R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet* [Internet]. 1976 Jul 1 [cited 2024 Mar 19];66(3):347–52. Available from: <https://europepmc.org/article/med/954441>
 73. Carmichael LE, Joubert JC. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. *Cornell Vet* [Internet]. 1987 Jan [cited 2024 May 10];77(1):3–12. Available from: https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/3802828/A_rapid_slide_agglutination_test_for_the_serodiagnosis_of_Brucella_canis_infection_that_employs_a_variant_M__organism_as_antigen_
 74. Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ. Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Res Vet Sci*. 2009 Feb 1;86(1):22–6.
 75. Abyntek. 3 problemas comunes al hacer un ELISA [Internet]. 2019 [cited 2024 Jun 11]. Available from: <https://www.abyntek.com/problemas-comunes-al-hacer-un-elisa/>
 76. León Flores JA. Presencia de *Brucella* spp. en perros atendidos en la clínica veterinaria DOGOPETS ubicada en Guayaquil. 2023 [cited 2024 May 5]; Available from: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/LEON%20FLORES%20JUAN%20ANDRE%20S.pdf>

77. Anyaoha CO, Majesty-Alukagberie LO, Ugochukwu ICI, Nwanta JA, Anene BM, Oboegbulam SI. Seroprevalence and risk factors of brucellosis in dogs in Enugu and Anambra States, Nigeria. *Rev Med Vet (Bogota)* [Internet]. 2020 Jun 19 [cited 2024 May 9];1(40):45–59. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542020000100045&lng=en&nrm=iso&tlng=en
78. Cajamarca Cango PN. Estudio serológico de brucelosis en perros con acceso al relleno sanitario del cantón Cuenca [Internet]. 2022 [cited 2024 May 4]. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/40034>
79. Parra Rodríguez PA. Prevalencia de *Brucella canis* y factores asociados en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en barrio Rumipamba de Espinozas, Rumipamba de San Isidro, Rumipamba de Villacis. 2019 [cited 2024 May 11]; Available from: <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6278/6/PC-000547.pdf>
80. Cadmus SIB, Adesokan HK, Ajala OO, Odetokun WO, Perrett LL, Stack JA. Seroprevalence of *Brucella abortus* and *B. canis* in household dogs in southwestern Nigeria: a preliminary report. *J S Afr Vet Assoc* [Internet]. 2011 [cited 2024 Mar 20];82(1):56–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21826840/>
81. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 10th edition Radostits. Usa. 2007;51(1):541.
82. Megid J, Brito AF, Moraes CCG, Fava N, Agottani J. Epidemiological assessment of canine brucellosis. *Arq Bras Med Vet Zootec* [Internet]. 1999 [cited 2024 Mar 19];51(5):439–40. Available from: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/9cpYcfqychKP6wvxbwtmv6L/?lang=en>
83. Almeida AC, Meneses AM, Bernis VMO, Soares TMP, Loiola CF, Marinovick C, et al. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG: dados preliminares. *Arq Bras Med Vet Zootec* [Internet]. 2001 [cited 2024 Mar 19];53(3):358–60. Available from: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/4ZdbBShRYMpm676srgJtY8r/>

84. Galarza Alvarado TP. Seroprevalencia de brucelosis canina en refugios del cantón Cuenca y sus factores predisponentes. 2022 [cited 2024 May 4]; Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38134>
85. Cunalata Panchi LL, Lovato Taipe AB. Prevalencia de *Brucella canis* en perros domésticos de las parroquias Eloy Alfaro y San Buenaventura del cantón Latacunga. 2023 [cited 2024 May 10]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10934>
86. Daly R, Willis KC, Wood J, Brown K, Brown D, Beguin-Strong T, et al. Seroprevalence of *Brucella canis* in dogs rescued from South Dakota Indian reservations, 2015–2019. *Prev Vet Med* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 May 9];184:105157. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105157>
87. Simmons KE, Hoffman CL. Dogs on the Move: Factors Impacting Animal Shelter and Rescue Organizations' Decisions to Accept Dogs from Distant Locations. *Animals (Basel)* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 May 9];6(2). Available from: </pmc/articles/PMC4773738/>
88. Porras A, Aguirre E. Diagnóstico de brucelosis (*Brucella canis*) en perros de un refugio ubicado en el cantón Sta. Rosa. 2024 [cited 2024 Jun 7]; Available from: tps://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/22683/1/Trabajo_Titulacion_2920.pdf
89. Maza V. M, Morales C. S. Seroprevalencia de brucelosis canina en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú. *Rev Investig Vet Perú* [Internet]. 2016 Jun 15 [cited 2024 May 4];27(2):375–80. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/11652>
90. Plaza Romero JX. Prevalencia de *Brucella abortus* en caninos (*Canis lupus familiaris*), en campañas de esterilización masiva, mediante la técnica de ELISA indirecta. 2022 [cited 2024 May 5]; Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/21919/1/UPS-CT009581.pdf>
91. Kressler N. Estudio de prevalencia de *Brucella* spp. en caninos (*Canis familiaris*), en el sector de Ancholag, parroquia Juan Montalvo, en el cantón Cayambe,

- provincia de Pichincha, Ecuador. [Internet]. 2014 [cited 2024 Jun 7]. Available from: <https://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2948>
92. Shin S, Carmichael LE. Canine brucellosis caused by *Brucella Canis*. *Recent Advances in Canine Infectious Diseases*. 1999;
 93. Makloski CL. Canine brucellosis management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2011 Nov 1;41(6):1209–19.
 94. Baek BK, Lim CW, Rahman MS, Kim CH, Oluoch A, Kakoma I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. *Can J Vet Res* [Internet]. 2003 Oct [cited 2024 Mar 19];67(4):312. Available from: [/pmc/articles/PMC280718/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16280718/)
 95. Brito González CM. Brucellosis and Q Fever seroprevalence associated with free-roaming dogs from urban and rural areas of Ecuador during the year 2019 [Internet]. 2020 [cited 2024 Mar 20]. Available from: <https://biblioteca.yachaytech.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=4116>
 96. Bercovich Z. Maintenance of brucella abortus-free herds: a review with emphasis on the epidemiology and the problems in diagnosing brucellosis in areas of low prevalence. *Vet Q* [Internet]. 1998 [cited 2024 Mar 19];20(3):81–8. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tveq20>
 97. Assenga JA, Matemba LE, Malakalinga JJ, Muller SK, Kazwala RR. Quantitative analysis of risk factors associated with brucellosis in livestock in the Katavi-Rukwa ecosystem, Tanzania. *Trop Anim Health Prod* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Mar 19];48(2):303–9. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-015-0951-z>
 98. Mortola E, Miceli GS, Meyer LP. *Brucella abortus* in dog population: an underestimated zoonotic disease. *Biomed J Sci Tech Res* [Internet]. 2019 Feb 27 [cited 2024 Mar 19];15(2):1–3. Available from: <https://biomedres.us/fulltexts/BJSTR.MS.ID.002681.php>
 99. Álvarez Álvarez CA, Pacheco Zambrano AN. Diagnóstico de la prevalencia de *Brucella* tipo lisa en perros (*Canis lupus familiaris*) de fincas del cantón Chone.

- 2023 [cited 2024 Mar 20]; Available from: <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/2174>
100. Rodríguez Rodríguez IP. Prevalencia de brucelosis en perros que conviven con vacas en establos lecheros de la provincia de Trujillo- La Libertad. 2019 [cited 2024 May 5]; Available from: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/4951/REP_MED;jsessionid=46876BE8B47676B92C5B110FBD57EE83?sequence=1
101. da Silva Junior FF, Almeida Teles JA, Fonseca de Almeida RL, Dutra Furtado G, dos Santos Silva A, Carvalho Tabosa BS. Predomino de la *Brucella abortus* en canes en un municipio de la región tropical americana. *Environ Smoke* [Internet]. 2018 Dec 31 [cited 2024 May 10];1(2):60–9. Available from: <https://environmentalsmoke.com.br/index.php/EnvSmoke/article/view/26>
102. Almeida AC, Santorelli A, Bruzadelli RMZ, Oliveira MMNF, Teixeira AG, Siqueira A V, et al. Soroepidemiologia da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG. *Arq Bras Med Vet Zootec* [Internet]. 2004 [cited 2024 May 11];56(2):275–6. Available from: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/NVFTLqgHHgfZnrC37MQB7Cg/?lang=pt>
103. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H, Domínguez Fernández-Tejerina JC. *Reproducción y obstetricia en veterinaria (teriogenología)*. 1991;
104. Henderson R, Hoerlein B, Kramer T, Meyer M. *J Am Vet Med Assoc*. 1974 [cited 2024 Mar 19]. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4423220/>
105. Hill WA VHGJMN. Hill WA, Van Hoosier GL Jr, McCormick N. *Enzootic abortion in a canine production colony. I. Epizootiology, clinical features, and control procedures.* . 1970.

ANEXOS



Anexo 1: Examen físico (toma de constantes)



Anexo 2: Examen físico (revisión de mucosas)



Anexo 3: Venopunción



Anexo 4: Toma de muestra de sangre



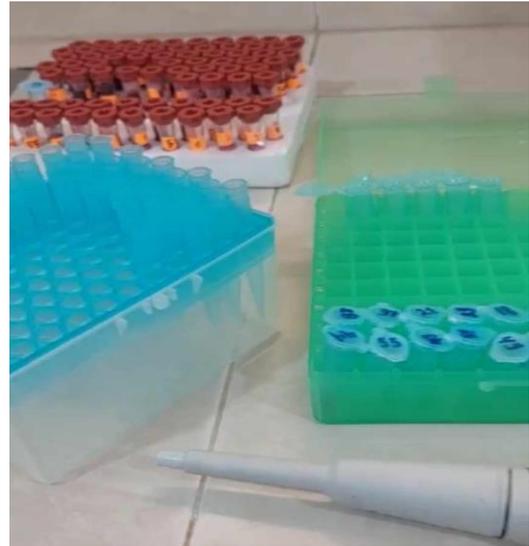
Anexo 5: Visita casa a casa para la obtención de muestras sanguíneas



Anexo 6: Dueños de caninos que accedieron a proporcionar datos para llenar la ficha epidemiológica



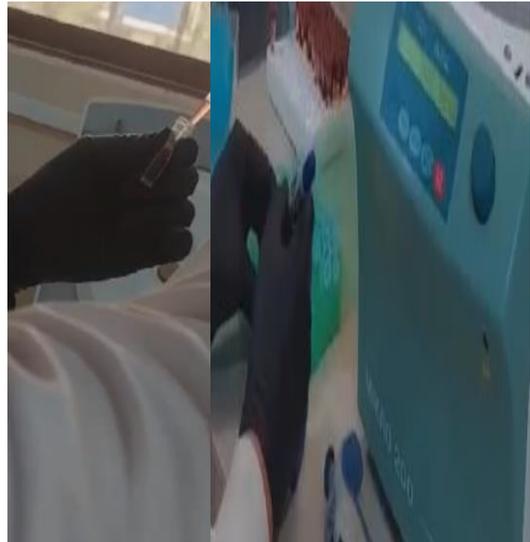
Anexo 7: Recolección de muestras sanguíneas



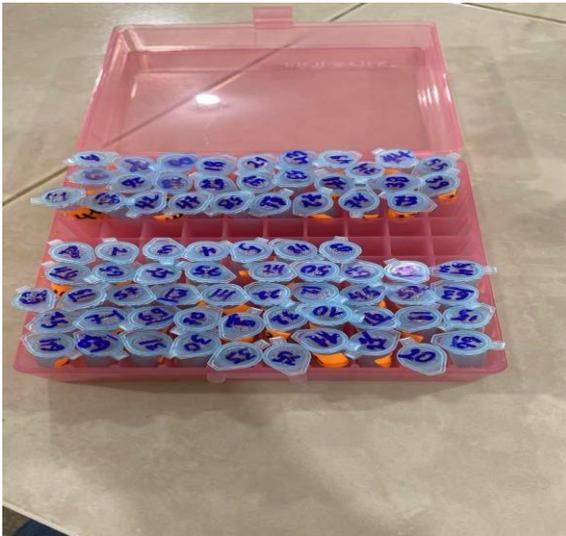
Anexo 8: Muestras en el laboratorio para extracción de suero



Anexo 9: Validación del kit



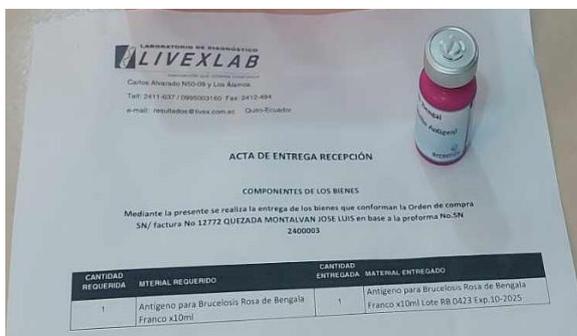
Anexo 10: Extracción de suero e identificación de muestras



Anexo 11: Muestras de suero identificadas



Anexo 12: Kit ELISA



Anexo 13: Reactivo Rosa de Bengala

Anexo 16: Ficha epidemiológica

Ficha epidemiológica			
Seroprevalencia de brucelosis canina en la cabecera cantonal del cantón Celica y sus factores predisponentes			
Datos del paciente			
Nombre			
Edad			
Raza			
Sexo			
Área de vivienda			
Rural			
Urbana			
Condición actual en la que se encuentra el paciente			
Estado reproductivo			
El canino tiene contacto con alguno de estos animales			
Bovinos	Porcinos	Ovinos	Aves
Equinos	Caprinos	Felinos	Otros
El canino (hembra) a tenidos problemas reproductivos			
Abortos			
Infertilidad			
A tenido crías anteriormente			
Si			
No			
El animal tiene acceso a la calle			
Si			
No			
Se le ha realizado algún examen para detectar algún tipo de brucella			
Si			
No			
Cual			
Si ha tenido crías			
Han nacido normales			
Murieron a los pocos días			
Cuantos partos ha tenido			
El canino se alimenta con leche cruda			
Si			No
Limpia o desinfecta el lugar donde vive o duerme el canino			
Si			
No			
Ubicación			
Datos del hogar del canino			
Dirección			
Coordenadas GPS			

Anexo 17: Historia clínica

Historia clínica

N° Historia clínica:	Fecha:	Médico Veterinario encargado:			
	Hora:	CI:			
		Senecyt:			
Nombre del propietario:					
Dirección:					
Teléfono:					
Nombre del paciente:		Especie:	Sexo:	Edad:	Raza:
Motivo de consulta					
Historia					
Vacunación: SI / NO	Estado		Dieta:		
Desparasitación: SI / NO	Reproductivo:	E	Procedencia:		
Constantes fisiológicas	Temperatura:	FC:	FR:	Tllc:	Mucosas:
Actitud del paciente:					
Anamnesis					
Enfermedades o padecimientos anteriores:					
Firma Médico Veterinario:			Firma propietario:		

Anexo 18: Consentimiento informado para tomar las muestras de sangre a los caninos

	CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE	Fecha:
		N° paciente:

Nombre tutor: _____ Cl: _____

Dirección: _____ Cel: _____

Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que realicen la extracción de sangre de mi mascota. Manifiesto que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de la toma de muestra de sangre. Asimismo, recibí una explicación clara y completa sobre la finalidad del uso de la muestra.

Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas las dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. **AUTORIZO** a la persona encargada la toma de la muestra.

Firma del tutor
