



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN CLÍNICA Y
CIRUGÍA DE PEQUEÑAS ESPECIES

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA Y FACTORES ASOCIADOS
EN CANINOS DOMÉSTICOS (*canis familiares*) EN EL CANTÓN ARENILLAS

AUTORA: DRA. MIRIAM ELIZABETH MORA CHIRIBOGA

MODALIDAD DE TITULACIÓN: PROYECTO DE DESARROLLO

TUTOR: DR. FERNANDO LENIN AGUILAR GÁLVEZ PhD (c)

MACHALA – 2024

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con todo mi amor y cariño a mi amado esposo, Luis Alberto Aguilar. Su esfuerzo y sacrificio me apoyaron para culminar mi maestría en Veterinaria, una profesión importante para nuestro futuro. Gracias por creer en mi capacidad, incluso en los momentos difíciles, siempre brindándome comprensión, cariño y amor.

A mis tres adorados hijos, Elian, Allison, y Damir, por ser mi fuente de motivación e inspiración. Ustedes me impulsan a superarme cada día más y a luchar por un futuro mejor.

A mi amada madre, Virginia Chiriboga, y a mis apreciados hermanos, Luis y Patricio, quienes con sus palabras de aliento no me dejaron caer y me animaron a perseverar y cumplir con mi objetivo.

A mis compañeros, quienes desinteresadamente compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas, les agradezco profundamente.

AGRADECIMIENTOS

La culminación de esta tesis de posgrado ha sido posible gracias al apoyo y la colaboración de numerosas personas. A todos ellos, les expreso mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, agradezco a Dios por brindarme la fortaleza y sabiduría necesarias para completar este trabajo.

A mi familia, especialmente a mi esposo Luis Aguilar, por su amor incondicional, su constante apoyo y por creer en mí en todo momento. Sus palabras de aliento y paciencia han sido fundamentales para alcanzar este logro.

A mi tutor de tesis, Dr. Fernando Lenin Aguilar Gálvez, por su invaluable orientación, sus valiosos consejos y su disposición para compartir su conocimiento. Su paciencia y dedicación han sido esenciales para el desarrollo de esta investigación.

A los docentes de Posgrado de la Maestría de Medicina Veterinaria Mención Clínica Y Cirugía De Pequeñas Especies por proporcionarme un entorno académico de excelencia y por su apoyo durante todo el proceso formativo.

Finalmente, agradezco a todos aquellos que, de una manera u otra, han contribuido a la realización de esta tesis. A todos, muchas gracias.

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, Miriam Elizabeth Mora Chiriboga con número de cédula 0702218850, declaro que el trabajo de “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA Y FACTORES ASOCIADOS EN CANINOS DOMÉSTICOS (canis familiares) EN EL CANTÓN ARENILLAS”, en opción al título de Magister en MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA MENCIÓN CLÍNICA Y CIRUGÍA DE PEQUEÑAS ESPECIES, es original; donde su contenido como definiciones, datos, y resultados son únicamente de mi responsabilidad



MIRIAM ELIZABETH MORA CHIRIBOGA

C.I. 0702218850

Machala, 14/06/2024

REPORTE DE SIMILITUD TURNITIN

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA Y FACTORES ASOCIADOS EN CANINOS DOMÉSTICOS (canis familiares) EN EL CANTÓN ARENILLAS

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

6%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

2%

★ repositorio.xoc.uam.mx

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 25 words

Excluir bibliografía

Activo

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Fernando Lenin Aguilar Gálvez con número de cédula 0704217348; tutor del trabajo de titulación “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA Y FACTORES ASOCIADOS EN CANINOS DOMÉSTICOS (canis familiares) EN EL CANTÓN ARENILLAS”, modalidad TESIS, en opción al título de Magister en MAESTRÍA 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, 14/06/2024

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Miriam Elizabeth Mora Chiriboga con número de cédula 0702218850; tutor del trabajo de titulación “SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA Y FACTORES ASOCIADOS EN CANINOS DOMÉSTICOS (canis familiares) EN EL CANTÓN ARENILLAS”, modalidad TESIS, en opción al título de Magister en MAESTRÍA 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:
- 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.
- 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.

MIRIAM ELIZABETH MORA CHIRIBOGA
C.I. 0702218850

Machala, 14/06/2024

RESUMEN

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa que es causada por la *Brucella* y que puede afectar tanto a caninos como humanos. En la presente investigación se determinó la prevalencia de *B. Canis* mediante el Kit de Elisa indirecta [Vetlis *Brucella* iElisa] en muestras hematológicas de 100 pacientes caninos recolectadas en clínicas veterinarias del cantón Arenillas. Los rangos fueron separados en edades de 2 a 11 meses, de 1 a 3 años, de 4 a 7 años y de 8 a 11 años; además, se interpreta los resultados en base a variables como sexo, raza y edad. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Citología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala donde se aplicaron las pruebas de Elisa indirecta y Rosa de Bengala. Como resultado se presentó una prevalencia de 6% a *B. Canis* por Elisa y 0% por Rosa de Bengala en las 100 muestras sometidas a evaluación. Los perros mestizos presentaron un 66.66% de seroprevalencia, obteniendo 4 casos positivos 4/100 (4%) y 62 casos negativos; en cuanto al sexo del paciente, se determinó resultados positivos en 1 hembras 16.67% y 5 machos 83.3% de un 58% de machos y 42% de hembra muestreadas. Los animales en fase reproductiva latente mostraron positividad independiente del sexo, con una mayor incidencia en razas mestizas. Sin embargo, dado que los mestizos constituyeron una mayor parte de la población estudiada, no se pudo concluir que la raza sea un factor determinante para la presencia de la enfermedad. Basado en los hallazgos, se consideró necesario concienciar a los propietarios sobre la importancia de implementar medidas preventivas y de control para mejorar el cuidado de sus mascotas y detener la propagación de *B. canis*. Es por esto que se les informó a los dueños de los pacientes caninos sobre el significado de la Brucelosis canina, junto con las repercusiones y cuidados necesarios para manejarlo en el hogar. Por lo tanto, se propuso mejorar las técnicas de diagnóstico, especialmente las moleculares y aumentar la población de estudio a nivel regional y provincial, con el fin de mejorar la calidad y precisión de los diagnósticos y avanzar en el conocimiento del campo. Además, también se recomendó establecer campañas de información sobre esta enfermedad canina y su impacto en la salud, explicando claramente los síntomas, modos de transmisión y medidas de prevención.

Palabras clave: Brucelosis canina, Arenillas, caninos domésticos.

ABSTRACT

Brucellosis is an infectious disease caused by *Brucella* that can affect both canines and humans. In this research, the prevalence of *B. Canis* was determined using the indirect Elisa Kit [Vetlis *Brucella* iElisa] in hematological samples from 100 canine patients collected in veterinary clinics in the Arenillas canton. The ranges were separated into ages from 2 to 11 months, 1 to 3 years, 4 to 7 years, and 8 to 11 years; In addition, the results are interpreted based on variables such as sex, race, and age. The samples were processed in the Cytology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Machala where the indirect Elisa and Rose Bengal tests were applied. As a result, a prevalence of 6% of *B. Canis* by Elisa and 0% by Rose Bengal was presented in the 100 samples submitted for evaluation. Cross-breed dogs presented a 66.66% seroprevalence, obtaining 4 positive cases 4/100 (4%) and 62 negative cases; Regarding the sex of the patient, positive results were determined in 1 female 16.67% and 5 males 83.3% of a 58% of males and 42% of females sampled. Animals in the latent reproductive phase showed positivity independent of sex, with a higher incidence in cross-breed breeds. However, since cross-breeds constituted a greater part of the population studied, it could not be concluded that breed is a determining factor for the presence of the disease. Based on the findings, it was considered necessary to raise awareness among owners about the importance of implementing preventive and control measures to improve the care of their pets and stop the spread of *B. canis*. This is why the owners of canine patients were informed about the meaning of canine brucellosis, along with the repercussions and care needed to manage it at home. Therefore, it is proposed to improve diagnostic techniques, especially molecular ones, and to increase the study population at regional and provincial levels, in order to improve the quality and accuracy of diagnoses and advance knowledge in the field. In addition, it was also recommended to establish information campaigns on this canine disease and its impact on health, clearly explaining the symptoms, modes of transmission and prevention measures.

Keywords: Canine brucellosis, Grit, domestic canines.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMÁTICA	2
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVOS	4
Objetivo General.....	4
Objetivos específicos	4
CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Brucelosis.....	5
1.2. Brucelosis en caninos.....	6
1.2.1. Etiología	6
1.2.2. Epidemiología.....	6
1.2.3. Zoonosis	6
1.2.3.1. Manifestaciones Clínicas en Seres Humanos	7
1.2.4. Respuesta Inmune.....	8
1.2.5. Transmisión	9
1.2.6. Morbilidad y Mortalidad	11
1.2.7. Patogenia	11
1.2.8. Signos Clínicos.....	13
1.2.9. Lesiones Anatomopatológicas.....	13
1.2.10. Diagnóstico Diferencial	14
1.2.11. Diagnóstico	14
1.2.11.1. PCR	16
1.2.11.2. Hemocultivo.....	16
1.2.11.3. Aglutinación en placa.....	17
1.2.11.4. Inmunodifusión en gel de Agar.....	17
1.2.11.5. Inmunocromatografía.....	18
1.2.11.6. Rosa de Bengala.....	18
1.2.11.7. ELISA	19
1.2.11.7.1. Principios de la técnica de Elisa.....	19
1.2.11.7.2. Teorías aplicadas a la prueba ELISA: ¡Error! Marcador no definido.	
1.2.11.7.3. Combinaciones enzimáticas y de sustrato que se emplean en los distintos métodos ELISA: ¡Error! Marcador no definido.	
1.2.12. Tratamiento	20
1.2.13. Control.....	20
1.3. Brucelosis canina en el Ecuador	21

CAPITULO 2: METODOLOGÍA	23
2.1. Tipo de estudio.....	23
2.2. Paradigma	23
2.3. Ubicación.....	23
2.4. Selección.....	24
2.5. Población y muestra.....	24
2.5.1. Población	24
2.5.2. Muestra	25
2.5.3. Criterios de Exclusión e inclusión.....	26
1.3.1. Variables de estudio	26
2.6. Método.....	26
2.6.1. Metodología de campo (toma y conservación de muestra):	26
2.6.2. Metodología de laboratorio	26
2.6.2.1. Rosa de Bengala	26
2.6.2.1.1. Validación	27
2.6.2.1.2. Interpretación	27
2.6.2.2. ELISA Indirecta.....	27
2.6.2.2.1. Preparación de los Reactivos para una microplaca de análisis (96 reacciones):	27
2.6.2.2.2. Preparación de los controles para una microplaca de análisis (96 reacciones).	28
2.6.2.2.3. Preparación de las Muestras:.....	28
2.6.2.2.4. Instrucciones de Uso para Microplaca de Análisis.	29
2.6.2.2.5. Expresión de los Resultados.....	30
2.6.2.2.6. Criterios de Validez de la Prueba.....	30
2.6.2.2.7. Interpretación de los Resultados	30
3. CAPITULO 3: RESULTADOS.....	31
3.1. Determinación de la prevalencia de Brucelosis canina por medio de ELISA.	31
3.2. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la rosa de bengala.....	32
3.3. Factor asociado a la variable sexo de los animales muestreados mediante técnica de ELISA	32
3.4. Factor asociado a la variable edad de los animales muestreados mediante técnica de ELISA	34
3.5. Factor asociado a la variable raza de los animales muestreados mediante técnica de ELISA	38
CAPITULO 4: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	44
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES.....	48

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Especies de <i>Brucella</i>	5
Tabla 2.	Interpretación de resultados a B. Canis por Elisa Indirecta.....	30
Tabla 3.	Prevalencia de <i>B. Canis</i> mediante técnica de ELISA.....	31
Tabla 4.	Prevalencia de <i>B. abortus</i> mediante técnica de Rosa de Bengala.....	32
Tabla 5.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la Variable sexo mediante técnica de Elisa.....	33
Tabla 6.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con el sexo de los caninos mediante técnica de Elisa.....	33
Tabla 7.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la variable edad mediante técnica de Elisa.....	35
Tabla 8.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la edad de los caninos mediante técnica de Elisa.....	36
Tabla 9.	Estadísticos descriptivos de la edad y el peso de los pacientes.....	37
Tabla 10.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la variable raza mediante técnica de Elisa.....	39
Tabla 11.	Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la raza de los caninos mediante técnica de Elisa.....	40
Tabla 12.	Prueba de chi-cuadrado para la variable sexo y presencia de la enfermedad.....	42
Tabla 13.	Prueba de chi-cuadrado para las variables edad y presencia de la enfermedad.....	43
Tabla 14.	Prueba de chi-cuadrado para las variables raza y presencia de la enfermedad.....	43

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Grafico 1. Transmisión de B.canis.....	11
Grafica 2 Ubicación Cantón Arenillas, Provincia de El Oro	24
Gráfica 3. Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la variable sexo mediante técnica de Elisa. 34	
Gráfica 4. Distribución de la variable sexo.....	34
Gráfica 5. Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la variable edad mediante técnica de Elisa. 36	
Gráfica 6. Diagrama de cajas para el peso de los animales.	37
Gráfica 7. Diagrama de cajas para la edad de los animales.	38
Gráfica 8. Prevalencia de <i>B. canis</i> en relación con la variable raza mediante técnica de Elisa. 41	
Gráfica 9. Diagrama de barras: Razas de los animales.....	42

INTRODUCCIÓN

La enfermedad denominada Brucelosis canina, está provocada por una bacteria conocida como *Brucella canis*, esta patología de carácter infecciosa aqueja a los canes, siendo una zoonosis de relevancia debido a que no solo representa un perjuicio para la salud animal sino también representa un peligro para la salud pública. Esta infección puede tener consecuencias graves, incluyendo la pérdida de la fertilidad y problemas en el sistema reproductivo de los caninos, así como su transmisión a los seres humanos, generando un peligro significativo para la salud pública. A pesar de los esfuerzos que se realizan a través de campañas de prevención y control, esta enfermedad sigue siendo relevante hoy en día. La efectividad de esos programas de control a menudo se ven comprometidos por la falta de financiación.

La prevalencia de *Brucella canis* se ha convertido en una preocupación global, dado su potencial impacto en la sociedad y la urgencia de poner en marcha de manera urgente estrategias efectivas para la profilaxis de esta enfermedad. En humanos, la enfermedad se manifiesta con síntomas como la fiebre, dolores musculares, dolor de cabeza, entre otros; mientras que, en los perros, a través de episodios de aborto, problemas en la reproducción y afecta el sistema ósea como también articular y esta infección ocurre vía oral, nasal al entrar en contacto con tejidos contaminados, como semen, orina y secreciones vaginales.

Actualmente, el número de personas que eligen tener una mascota sigue en aumento, y se promueven adopciones diariamente. Debido a este contacto directo entre humanos y perros, existe una gran posibilidad de contagio de esta enfermedad

La identificación y cuantificación precisa de la prevalencia de *Brucella canis* son cruciales para percibir la dimensión del dilema y para diseñar medidas de control adecuadas. En este contexto, las técnicas de diagnóstico desempeñan un papel fundamental. Entre estas técnicas, el Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y la prueba de Rosa de Bengala ha demostrado ser un método efectivo para identificar anticuerpos específicos contra *Brucella canis*.

Sin embargo, pese de los progresos en las técnicas de diagnóstico, la falta de estudios exhaustivos sobre la prevalencia de *Brucella canis* en diversas poblaciones caninas plantea un desafío significativo. Esta falta de información confiable impide una evaluación precisa de la magnitud del problema y la implementación efectiva de medidas

de control. Además, la variabilidad en los métodos de diagnóstico utilizados en diferentes regiones y la falta de estandarización contribuyen a la dificultad en la comparación de datos epidemiológicos a nivel global.

PROBLEMÁTICA

Mediante esta investigación se aborda la problemática de la Brucelosis canina, centrándose en la prevalencia de *Brucella canis* mediante el uso de técnicas de ELISA y la prueba de Rosa de Bengala. Se busca no solo determinar la frecuencia de la infección en distintas poblaciones caninas, sino también evaluar la eficacia de estas técnicas como herramientas de diagnóstico. La investigación se enfoca en contribuir a la comprensión integral de la Brucelosis canina, facilitando la implementación de estrategias de control y prevención que sean fundamentadas y eficaces.

La Brucelosis Canina no solo impacta a los perros, sino que también genera inquietudes en términos de salud pública debido al riesgo de transmisión a los humanos. La falta de información exacta sobre la frecuencia de *Brucella canis* en diversas poblaciones caninas dificulta el desarrollo de estrategias eficaces para prevenir la propagación de la enfermedad a los seres humanos.

En el campo de la cría y reproducción de perros, la existencia de *Brucella canis* puede ocasionar resultados devastadores, impactando la salud reproductiva de los animales y generando pérdidas económicas considerables para los criadores. Evaluar la prevalencia de la enfermedad es crucial para implementar medidas de control y gestión adecuadas en criaderos y refugios.

Aunque existen métodos de diagnóstico para la Brucelosis Canina, la precisión y sensibilidad de estas pruebas pueden variar. La prueba de Rosa de Bengala y la técnica de ELISA han demostrado ser prometedoras, pero la investigación adicional es esencial para validar su eficacia en diferentes contextos y poblaciones caninas. La prevalencia de enfermedades infecciosas puede variar significativamente según la ubicación geográfica y las características de la población canina. Esta investigación abordará la necesidad de datos específicos que reflejen la realidad del cantón Arenillas.

JUSTIFICACIÓN

La Brucelosis canina constituye un riesgo considerable para la salud pública, dado que las personas pueden contraer la enfermedad mediante el contacto directo con perros infectados o sus secreciones. La ausencia de datos precisos sobre la prevalencia de *Brucella canis* en diferentes poblaciones caninas dificulta la creación de estrategias para prevenir la propagación de la enfermedad a los humanos.

Este estudio proporcionará información esencial que puede ser utilizada para llevar a cabo campañas informativas y medidas preventivas, disminuyendo así el riesgo de transmisión zoonótica, enfermedad extendida globalmente, que puede provocar abortos en animales domésticos y una infección debilitante en los humanos. Es por esto que se considera que actualmente es una infección que causa pérdidas económicas en criaderos y representa un riesgo para la salud pública. Por lo tanto, es muy necesario implementar métodos para determinar la presencia de la enfermedad en el Cantón Arenillas, con el fin de evitar que esta afecte tanto a la salud animal como humana.

A pesar de la importancia de esta enfermedad zoonótica que preocupa, no existen estudios previos en el Cantón Arenillas; por lo que la falta de información ofrece una gran oportunidad de poder generar conocimientos en una área poco explorada, esto permitirá comprender de una manera mejor la situación y así poder plantear medidas de prevención.

En el país, poco a poco ha ido aumentando el interés que tienen las personas por tener mascotas, la mayoría son casos de adopción de perros callejeros que se pueden encontrar en los centros de rescate, convirtiéndose en focos de contagio. De ahí la importancia de realizar estudios para detectar y prevenir la Brucelosis canina, garantizando la salud de los perros como también de las personas.

Identificar esta enfermedad en la población canina es crucial para prevenir la transmisión a los humanos y tomar medidas preventivas que sean apropiadas y acordes a esta infección; es por esto que un estudio en el Cantón Arenillas proporcionará datos que serán importantes para las personas, las veterinarias e incluso para las autoridades de salud.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la prevalencia de Brucelosis canina en el cantón Arenillas a través de la aplicación y comparación de dos métodos diagnósticos, ELISA y Rosa de Bengala.

Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de Brucelosis canina mediante rosa de bengala.
- Determinar la prevalencia de Brucelosis canina mediante ELISA indirecta.
- Establecer una relación entre las variables de edad, raza y sexo de los animales examinados y la positividad de la enfermedad.
- Socializar los resultados del estudio con los habitantes del cantón Arenillas con la finalidad de implementar medidas de prevención y control.

CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO

1.1.Generalidades sobre la Brucelosis

La Brucelosis es una enfermedad con distribución global, la cual es clasificada como una enfermedad infecciosa y transmisible que se desarrolla de manera crónica; caracterizándose por la presencia de bacterias en la sangre que se manifiesta de forma clínica. Los sistemas más afectados son el musculo esquelético y reproductivo, siendo el principal motivo de aborto en caninas.

La *Brucella spp.* es una bacteria gramnegativa, un cocobacilo inmóvil, corto con un tamaño de 0,5 a 0,7 de diámetro, se caracterizan por ser de lento crecimiento, estrictamente aeróbicos, debido a su fisiología de carácter oxidativa, estos usan nitratos como receptores de electrones y muestran positividad a enzimas como la catalasa y oxidasa, no llevan a cabo la fermentación de azucares (1).

Esta patología es de carácter zoonótica debido a que afecta a la salud pública, está registrada en el Sistema SIVE-ALERTA (Sistema de vigilancia de las enfermedades de alta capacidad de transmisión, patogenicidad, o virulencia), teniendo a consideración que cuando la Brucelosis afecta a los seres humanos, también se la puede conocer como: fiebre ondulante, melitococia, fiebre de mediterráneo o fiebre de malta (2)

Tabla 1. Especies de *Brucella* (Aguilar, 2024)

ESPECIE	HOSPEDADORES
<i>Brucella melitensis</i>	Cabras – bovinos – ovinos – caninos – hombres
<i>B. abortus</i>	Bovinos – caninos – hombre
<i>B. suis</i>	Cerdos – caninos – hombre
<i>B. canis</i>	Caninos – hombre
<i>B. ovis</i>	Ovinos
<i>B. neotomae</i>	Roedores
<i>B. ceti</i>	Delfines – marsopas – ballenas
<i>B. pinnipedialis</i>	Focas
<i>B. microti</i>	Zorros rojos – roedores de campo
<i>B. inopinata</i>	Desconocido

1.2.Brucelosis en caninos

La Brucelosis canina fue notificada por primera vez en el año 1966, tras observarse varios casos de abortos e infertilidad en los canes, los perros domésticos son el huésped principal de *B. canis*, sin embargo se ha documentado la presencia de la misma tanto en perros salvajes como en seres humanos (3).

La *Brucella canis* produce un padecimiento de tipo infecto – contagiosa, que puede ser de curso subclínico, agudo y/o crónico, esta puede causar infertilidad tanto en machos como en hembras y al tratarse de una enfermedad zoonótica representa riesgo sanitario para tutores, criadores o cualquier persona que comparta espacio con el can (4).

1.2.1. Etiología

El agente etiológico de la Brucelosis canina es la *Brucella canis*, un cocobacilo gramnegativo, facultativo intracelular de origen zoonótico, aerobio inmóvil y no consta de capsula, esta especie se distingue de otras por su nivel patogenicidad y preferencia de huéspedes, siendo los más afectados los perros y de manera esporádica seres humanos y cánidos salvajes (5).

1.2.2. Epidemiología

La *Brucella canis* es endémica en América del Sur, con informes de prevalencia en países como Colombia (2,76%), Perú (3,3%) y Chile (8%), estas cifras se han obtenido mediante estudios realizados en diversas ciudades, tomando en cuenta clínicas veterinarias y refugios de perros, utilizando pruebas que detectan tanto anticuerpos como antígenos de la enfermedad, mientras que, en Ecuador, se ha documentado presencia de Brucelosis canina, en Quito con 10,5% y 3.38% en la Latacunga. (6)

1.2.3. Zoonosis

A escala global, la Brucelosis continúa siendo una enfermedad zoonótica relevante, destacándose las tasas de prevalencia más significativas tanto en animales como en humanos, se estima que anualmente se registran alrededor de 500,000 nuevas infecciones en humanos, mayormente atribuibles a las bacterias *Brucella abortus*, *suis* o *mellitensis* (7).

B. canis se reconoce como endémica en regiones de Norte, Sur y Centro América, y se han registrado brotes en Europa, Asia y África, estos casos esporádicos son vinculados a la importación de perros infectados, a diferencia de la Brucelosis en el ganado, la Brucelosis en perros no está sujeta a la obligatoriedad de declaración ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), no obstante en Holanda, la Brucelosis es de declaración obligatoria tanto en humanos como en todas las especies de mamíferos, es importante recalcar que Holanda tuvo el primer caso de Brucelosis canina en el año 2016 que presentaba discoespondilitis. (8) (9)

La *B. canis* es transmitida a los seres humanos mediante el contacto, ya sea directo o indirecto, con animales que están infectados o con sus derivados, recalcando que la mayoría de las cepas de *Brucella* tienen la capacidad de causar enfermedad en los seres humanos. (10) (11)

1.2.3.1. Manifestaciones Clínicas en Seres Humanos

- **Subclínicas:** en esta fase la enfermedad no presenta síntomas y su diagnóstico generalmente se realiza de manera fortuita al detectar serológicamente a individuos con un elevado riesgo de exposición (12)
- **Agudas:** la enfermedad puede manifestarse de manera leve y autolimitada (por *B. abortus*) o de manera fulminante con complicaciones graves (por *B. melitensis*), los síntomas asociados tienen la posibilidad de desarrollarse entre 2 y 3 meses antes del diagnóstico en los casos leves, y entre 3 y 12 meses antes del diagnóstico en los casos graves. (12,13).
- **Crónicas:** en situaciones donde la enfermedad ha persistido por más de un año, se observa comúnmente un patrón sin fiebre o con fiebres leves, acompañado de historial de dolores musculares, fatiga y dolor en las articulaciones, en la forma crónica, que afecta principalmente a personas mayores de 30 años, y es poco frecuente en niños (13).

En general, las personas infectadas de Brucelosis, presentan los siguientes signos y síntomas: fiebre, mialgias, cefaleas, náuseas, escalofríos, dolor de espalda, pérdida de peso, anorexia y linfadenopatías, también se observan manifestaciones osteoarticulares adicionales, siendo la sacroileítis más frecuente, donde los médicos pueden tener muchas

dificultades para identificar los síntomas de la infección debido a la baja prevalencia en personas sanas (14). También puede suceder que se confunda con otras enfermedades lo cual conlleva a contraer errores, ya que tienen falta de conocimiento acerca de esta infección en humanos.

En los niños se ha diagnosticado por manifestaciones clínicas como: náuseas, vómitos y diarrea, junto con síntomas respiratorios como tos constante, dolor de garganta y ardor conjuntival (15)

Complicaciones graves, como endocarditis y asociaciones con problemas vasculares, como válvula aórtica y aneurisma de extremidades inferiores, se han observado en algunos casos. La variedad de síntomas subraya la complejidad de la presentación clínica de la Brucelosis humana, agrandamiento del bazo y/o del hígado, aumento de enzimas hepáticas, pérdida de peso, anemia, agrandamiento de ganglios linfáticos/ovarios y dolor abdominal, (14,15).

1.2.4. Respuesta Inmune

Desde el punto de vista antigénico, *B. canis*, entra en la clasificación de *Brucella* rugosa, ya que en la membrana externa su lipopolisacárido se caracteriza por su superficie rugosa, este lipopolisacárido rugoso también está presente de forma natural en *B. ovis*, y es el responsable del deterioro en su habilidad para persistir y reproducirse dentro de las células y disminuyendo la expresión de citocinas en los monocitos de las personas, sugiriendo e una modulación negativa de la respuesta inmunológica, lo que podría afectar la capacidad del sistema inmunológico para combatir la infección por *B. canis*, así mismo, *B. canis* no exhibe reacciones cruzadas con los antígenos de las pruebas serológicas convencionales de especies lisas, específicamente con *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis* (16).

B. canis, al igual que las demás especies dentro de su género, no posee factores de virulencia bacteriana ampliamente reconocidos, tales como proteasas, exotoxinas, cápsulas y fimbrias, por ende, su virulencia se centra principalmente en la habilidad para sobrevivir y multiplicarse dentro de macrófagos y células dendríticas, al mismo tiempo que modula la respuesta inmune del huésped, así mismo, la actividad de la ureasa desempeña un papel crucial en la patogénesis humana, permitiéndole subsistir en ambientes ácidos, como el estómago. (9)

Después del encuentro con *Brucella*, los anticuerpos se vuelven evidentes aproximadamente dos semanas después de la infección. Siguiendo un patrón similar a todas las enfermedades causadas por *Brucella spp.*, la fase inicial de la respuesta humoral está caracterizada principalmente por la presencia de la IgM, la cual es gradualmente reemplazada por la IgG; esta última predomina en la fase crónica de la respuesta inmunológica (17).

La respuesta inmunitaria adaptativa frente a *Brucella spp.* comprende tres mecanismos fundamentales que operan en distintas fases de la infección:

- 1) La inducción de una respuesta humoral que resulta en la producción de anticuerpos (18)
- 2) La activación de la capacidad bactericida de los macrófagos a través de la acción del IFN- γ , generado por células T CD4+ y CD8+ (18)
- 3) La lisis de células infectadas mediante linfocitos T CD8+.(18)

1.2.5. Transmisión

Este patógeno tiene una vía de diseminación principalmente vertical de la madre infectada a la camada (pre, peri, posparto), también por transmisión sexual, mediante el flujo vaginal y el semen, la orina también ha sido considerada como un posible modo de contagio (8).

Existe pocos datos sobre el periodo incubación por *B. canis*, los signos agudos de la enfermedad suelen aparecer después de 1-4 semanas, no obstante, este patógeno puede ser engañoso en sus inicios, en ciertos casos se ha podido diagnosticar la bacteria incluso 6 meses después de la exposición (15).

Existe casos en los cuales durante los primeros dos años posteriores a la transmisión de la enfermedad, los animales no muestran signos clínicos de la enfermedad, inclusive después de la orquiectomía los machos pueden representar una fuente de contagio debido a que este patógeno se va albergar en la próstata y tejidos linfáticos, esta bacteria también ha sido aislada en saliva, secreciones oculares y nasales, si bien en los machos la orina ha sido considerada una vía de diseminación, en las hembras no es considerada una vía de contagio, debido al nula cantidad de microorganismos presentes, el macho posee una

elevada presencia de microorganismos a comparación de las hembras, se plantea que esto se debe a la localización de la bacteria en la próstata, epidídimo o la contaminación con el líquido seminal (19).

Los caninos pueden contagiarse por contacto directo con la mucosa oronasal, conjuntiva, lesiones en la piel, secreciones, excreciones y tejidos (incluyendo la sangre) de los animales infectados, las hembras que abortan presentan un riesgo de contaminación, debido a la presencia de microorganismos en los tejidos y fluidos placentarios, así como en los fetos abortados, o neonatos muertos, con una eliminación permanente durante al menos 4 a 6 semanas, los productos asociados con el aborto y el parto contienen altos niveles de *B. canis*, representando un elevado riesgo de contaminación para los animales y así mismo para los propietarios, así mismo los veterinarios, técnicos de laboratorio también pueden sufrir el riesgo de contagio, los microorganismos también se eliminan mediante la leche, en menor cantidad de saliva y lágrimas, el contacto directo, aerosoles, transmisión de fómites mediante contaminación son otras vías de contaminación, especialmente en perreras, en la actualidad existe dificultades para entender la relevancia epidemiológica de la transmisión de enfermedades no reproductivas y el riesgo que representa, no obstante, lo que se conoce es que es un riesgo acumulativo, debido a que depende del tiempo que se tiene con el perro infectado, la proximidad con el mismo, se considera que la transmisión mediante la orina es una vía de contagio importante dentro de los criaderos reproductores (20)

Los animales contagiados pueden ser una vía de contaminación a otros caninos, persona, inclusive después de controlar la septicemia, sin signos clínicos de la enfermedad (10).



Grafico 1. Transmisión de B.canis

1.2.6. Morbilidad y Mortalidad

Las especies de *Brucella* incluido las serovariedades más virulentas como *B. melitensis* tienen una mortalidad del 1-2%, ensayos serológicos realizados durante los años 1979 e inicios de 1980, se determinó que menos del 2% de las poblaciones estudiadas tenían presencia de anticuerpos contra *B. canis*, los canes estudiados obtuvieron una prevalencia del 68%, el 73% veterinarios, se determinó que un 57% de los donantes de sangre masculinos han estado en contacto con canes en niveles promedio en un estudio realizado en el Centro de Ciencias de la Salud de Oklahoma en 1975 (20)

Esta afección es estimada la zoonosis bacteriana de mayor prevalencia en todo el mundo, causando alrededor de 500.000 casos cada año, significando una alta morbilidad en la población expuesta (21)

1.2.7. Patogenia

Este patógeno se adhiere a las membranas mucosas, estas atraviesan la barrera epitelial, siendo absorbidas a través del sistema fagocítico mononuclear, donde estas habitan de manera intracelular, esto se da debido a los factores de virulencia, se cree que es debido al sistema secretor tipo IV, estas impiden el sistema bactericida mieloperoxidasa-peróxido-haluro a través del desencadenamiento de 5-guanosina y adenina (8,17,18).

Inmediatamente los órganos que se encuentran intracelularmente se desplazan mediante el sistema reticuloendotelial hasta llegar a los nódulos linfáticos locales (retrofaríngeos, inguinales, iliacos superficiales), el hígado, bazo, probablemente a la médula ósea, luego de un periodo de 7 a 30 días, estos microorganismos se desplazan a los tejidos reproductivos dependientes de esteroides tales como la próstata, los testículos, epidídimo, útero grávido y placenta (22).

Las rutas más comunes de contaminación por *Brucella*, son mediante la mucosa digestiva o respiratoria, es por esto que un paso importante en la patogénesis de esta bacteria es la capacidad de atravesar los epitelios intestinales de manera intacta, a través de la célula M, de forma silenciosa sin causar una respuesta por parte del sistema inmune innato del huésped, la *Brucella* requiere un sistema regulador de dos componentes BvrR/BvrS, incursión y monitoreo de las células fagocíticas y no fagocíticas, mediante reclutamiento de GTPasas, en especial de la Cdc42 (23).

Otro factor de vital importancia de este patógeno es el lipopolisacárido, las cepas de *Brucella* son rugosas por naturaleza (esto se debe a la ausencia de cadena O- polisacárido de sus moléculas de LPS), debido a que *B. canis*, atraviesa las células del hospedador de manera eficaz a comparación de las cepas lisas, la desventaja es que posee una menor probabilidad de sobrevivir dentro de las células del huésped en cultivo o in vivo, el LPS suave es una defensa contra mecanismos bactericidas del hospedador, incluidos péptidos antimicrobianos, óxido nítrico y radicales libres, es por esto que las proteínas de la membrana externa (Omp), poseen un papel en la virulencia del patógeno (23).

Diversos estudios han determinado el sistema de secreción de *Brucella* tipo IV (T4SS), es codificado por el operón virB, es indispensable para la sobrevivencia intracelular y persistencia in vivo (23).

Este sistema desplaza las proteínas efectoras bacterianas al citosol del huésped, en ausencia de un T4SS funcional, el patógeno no es capaz de manejar el tráfico intracelular de la vacuola que contiene *Brucella* hacia el retículo endoplasmático rugoso (RER), que constituye el nicho replicativo intracelular de *Brucella* (23).

En la mayor parte de los estudios acerca de la patogénesis de *Brucella* no involucran a *B. canis*, aunque se han descrito ciertas particularidades, la infección de *B. canis* persuade a una respuesta proinflamatoria defectuosa inclusive en el huésped preferencial, esta

especie no están tendenciosa a inducir la inflamación, algunas especies patógenas lisas de *Brucella* en condiciones experimentales, lo que resulta en una inducción menor de la producción IFN γ y lesiones inflamatorias (23).

1.2.8. Signos Clínicos

- **Hembras:** causa problemas reproductivos, causando infertilidad, aborto tardío entre los 45 y 59 días y endometritis, placentitis, flujo vaginal fétido y oscuro aunque suelen imperceptibles clínicamente (7) (24) (25).
- **Machos:** Epidimitis, atrofia testicular, prostatitis, eccemas humados en el escroto, la calidad espermática con la presencia de glóbulos blancos, un aumento en la deformación de la morfología espermática se pueden observan durante los primeros 3 meses post-infección (7) (15) (26). Un análisis de semen ayudaría a proporcionar datos relevantes, dado esto, es necesario tener precaución a la exposición seminal hasta que se pueda determinar con seguridad.
- **General:** Letargo, uveítis, discoespondilitis, debilidad muscular, cojera, intolerancia al ejercicio y otras enfermedades crónicas como linfadenomegalia, esplenomegalia, osteomielitis, poliartritis, meningoencefalitis y dermatitis piogranulomatosa (26).

1.2.9. Lesiones Anatomopatológicas

En un estudio realizado por Domínguez et al. con el tema “Distribución tisular de *Brucella canis* en fetos y neonatos caninos”, obtuvieron los siguientes resultados; los cocobacilos marcados inmunológicamente se dispersaron de manera extensa en diversos órganos y tejidos de los 13 cachorros positivos diagnosticados mediante la prueba de PCR para *Brucella*, los órganos que marcaron una presencia del patógeno en un 100%, fueron: el riñón, estómago, el intestino y el ombligo, los cuales albergaban numerosos cocobacilos intracitoplasmáticos marcados inmunológicamente, asimismo, los macrófagos dieron resultados positivos en el corazón (11 de 13), en los pulmones (11 de 13), y en el parénquima hepático, de la misma manera, en los espacios adyacentes a los portahepáticos y alrededor de las venas lobulares centrales (12 de 13), a pesar de ser prepuberales y encontrarse en una etapa muy temprana, los órganos reproductivos, como las gónadas, el útero y la próstata, presentaron con frecuencia positividad (8 de 11), con

la marcación inmunológica principalmente en macrófagos, miometrio próstata, y ligamento ancho uterino (16).

En canes con Brucelosis, se caracteriza por la hipertrofia de ganglios linfáticos y la esplenomegalia, afectando tanto a adultos como a cachorros. Las lesiones inflamatorias comprometen el sistema genital, y bajo observación microscópica, se constata una hiperplasia linforreticular generalizada en órganos linfoides, incluso en situaciones de bacteriemia crónica. En el sistema urogenital, se detecta infiltración linfocítica en la submucosa, impactando la próstata, epidídimo, pelvis renal y útero. La infección prolongada se vincula con endometritis, prostatitis granulomatosa y atrofia testicular. Otras afecciones repercuten en el riñón, manifestando engrosamiento de la membrana basal y limitada infiltración celular, y se detallan complicaciones en el hígado, corazón y sistema nervioso. En el ámbito ocular, se manifiestan condiciones como iridociclitis y retinitis granulomatosa. En casos de aborto fetal, se evidencian edema subcutáneo, congestión y hemorragias, y los anexos placentarios exponen necrosis coagulativa con una notoria presencia bacteriana (7).

En las placentas que han sido abortadas se observan áreas de necrosis coagulativa focal en las vellosidades coriónicas, así como arteritis necrotizante, y se detecta la presencia abundante de bacterias en las células epiteliales trofoblásticas (22).

1.2.10. Diagnóstico Diferencial

Las *Brucellas* tienen la capacidad de alterar la funcionalidad de cualquier órgano, por ende tener una lista de diagnósticos potenciales es fundamental, podemos categorizar los cuadros clínicos según el sistema que se encuentre afectado, como sistema reproductivo, donde encontraremos: torsión o trauma testicular, neoplasias testiculares, hemometra, endometritis, distocias, malformaciones o abortos, los cuales no necesariamente pueden ser causados por *B. canis*, no obstante, existen otras enfermedades sistémicas de tipo infecciosas que pueden entrar en nuestro diagnóstico diferencial, como: leptospirosis, neosporosis, herpesvirus, toxoplasmosis, estreptococosis y mycoplasmosis, (27).

1.2.11. Diagnóstico

La identificación de perros afectados por Brucelosis generalmente representa un desafío, ya que los signos clínicos tienden a ser imprecisos o incluso inexistentes, para llegar a un diagnóstico definitivo, es necesario realizar un hemocultivo de *B. canis*, un procedimiento que resulta relativamente poco sensible, consume mucho tiempo y debido al largo proceso que tiene no se recomienda su aplicación en extensas poblaciones de caninos, existen varios métodos serológicos disponibles a través de kits comerciales y servicios de pruebas que se ofrecen en laboratorios de diagnóstico (28).

El diagnóstico de la Brucelosis canina suele involucrar el empleo de biotipados convencionales, técnicas moleculares o pruebas serológicas, aunque la utilización de sangre total para el aislamiento de *B. canis* demuestra ser eficaz, no obstante, presenta desventajas, ya que demanda un prolongado período de incubación debido al crecimiento meticuloso de la bacteria, así mismo, las pruebas serológicas también exhiben limitaciones, como una sensibilidad reducida, especificidad variable y posibles reacciones cruzadas (29).

Un estudio realizado por un laboratorio de diagnóstico veterinario recibió 4.421 muestras de 4.419 caninos para realizar pruebas de *B. canis* en un periodo de 5 años, las pruebas de PCR provenían de 15 países europeos, obteniendo una prevalencia del 3.7% (61/1657) (30).

Cuando se toma en cuenta los signos clínicos del animal, el historial de viajes, se recomienda realizar una prueba de SAT (Prueba de aglutinación sérica) y ELISA indirecta en suero separado, ambas pruebas detectan anticuerpos IgM e IgG, estos identifican estadios agudos y crónicos de la enfermedad, con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 99%, es posible tener falsos negativos en infecciones agudas y muy crónicas (subclínicas), de este modo la serología no excluye por completo la presencia del patógeno, en casos en los que persiste la posibilidad de la presencia del patógeno en un canino con serología negativa, se debe realizar nuevamente una prueba serológica después de 4-6 semanas si esta es negativa se repite a las 12 semanas para permitir la seroconversión, los canes deben permanecer en cuarentena a la espera de los resultados (20).

En países como Brasil, la técnica de tinción con Rosa de Bengala, la 2 mercaptoetanol y la de fijación de complemento (CFT) en la actualidad son utilizadas para el

serodiagnóstico de *Brucellas* lisas, mientras que la AGID es utilizada en *Brucellas* rugosas (31).

1.2.11.1. PCR

Para la detección de *B. canis* se han utilizado varios cebadores para la detección en ADN en sangre total, secreciones vaginales y semen, esto debido a su alta sensibilidad y especificidad, esta se puede usar como una prueba de detección rápida o como prueba confirmatoria en perros seropositivos (19). Esta técnica es aplicable cada fase de la patogénesis de la enfermedad, siendo muy ventajosa en animales crónicos serológicamente negativos, además el riesgo para el personal del laboratorio es mínimo (32).

1.2.11.2. Hemocultivo

Para la determinación de *B. canis* se puede realizar cultivo de sangre, orina, flujo vaginal, semen o líquidos/tejidos abortados, estas muestras deben ser tomadas de forma estéril, en un denominado vial de cultivo aeróbico estándar o en un tubo con heparina (tapa verde), no congelarlo pero si debe estar almacenado en hielo y enviarse dentro de las 24 horas al laboratorio, es posible emplear el medio de Farrell o una variante modificada del medio de Thayer-Martin para el cultivo, la desventaja de esta técnica es que tiene una limitación al momento de detectar el patógeno debido a los niveles bajos de la bacteria, muda intermitente, mala toma de muestra, mala interpretación de la muestra, formas exigentes y el crecimiento lento de la bacteria, elección incorrecta de los medios de cultivo, un resultado negativo en el cultivo no debe excluir la posibilidad de una infección, debido a que la baja sensibilidad puede corresponder a un falso negativo, aunque es considerada una prueba de detección inapropiada, es una prueba de confirmación ideal (22).

Los cultivos son pruebas bacterianas específicamente diseñadas y sus resultados confirman la presencia del patógeno, esta prueba tiene una sensibilidad baja incluso cuando se realizaron los pasos del enriquecimiento, los resultados positivos solo se observan en estadios tempranos de la enfermedad, por esta razón, un resultado negativo no indica la falta de infección o propagación de la enfermedad (20).

La *B. canis* no posee de *biovar*, es decir esta no consta de subespecies, para su crecimiento en la primera etapa de aislamiento no necesita de dióxido de carbono y de fucsina, no obstante, para su desarrollo es indispensable la tionina, sustancia presente en los medios

de cultivo selectivos para *Brucella*, durante la primera etapa de aislamiento, las colonias de *Brucella canis* se pueden encontrar en dos fases: mucoide (M) o rugosa (R), a diferencia de la fase lisa (S), la cual no se ha evidenciado en el primer aislamiento, esta bacteria no muestra preferencia por los antígenos A y M, por lo que no se aglutinan, mientras que, la misma muestra aglutinación cuando se le expone a antisueros específicos para el antígeno R de *B. ovis*, lo que sugiere cierta relación inmunológica o similitud antigénica con el antígeno R de *B. ovis*.(19).

1.2.11.3. Aglutinación en placa

Esta prueba utiliza un antígeno de las células enteras muertas, las cuales son producidas por una cepa denominada M de la *Brucella canis*, la cual se tiñe con Rosa de Bengala, se realiza una agregado de volúmenes uniformes de suero de cada paciente y 2-mercaptoetanol (2-ME) 0.2 M en una placa de aglutinación, esto se deja gravitar durante 30 segundos, el antígeno del portaobjetos procede a ser mezclado con cada muestra a analizar y se agita por 3 minutos para posteriormente ser visto en un microscopio invertido a 4x para así poder determinar los niveles de aglutinación y eliminación de antígenos, en las muestras de aglutinación que posean una aglutinación de 3-4+ son positivas, aglutinación de 0-2+ son negativas (34).

1.2.11.4. Inmunodifusión en gel de Agar

La técnica de inmunodifusión en gel de agar (AGID) emplea los antígenos presentes en la pared celular. (AGIDcwa) o antígenos citoplasmáticos, estos pueden usar dos tipos de antígenos los de la pared celular o proteínas antígenos extraídas del citoplasma (AGIDcpa) (19).

Esta técnica se basa principalmente en las proteínas de superficie, localiza precipitinas de 5 a 10 semanas post infección, este método tiene como desventaja principal las reacciones cruzadas y la subjetividad en la interpretación de las líneas de precipitinas, los antígenos superficiales, pueden utilizar antígenos citoplasmáticos para esta prueba, lo que causa que esta sea una prueba de gran especificidad para detectar *Brucella*, debido a que los antígenos citoplasmáticos están presentes solo en organismos del género *Brucella*, los antígenos citoplasmáticos permiten determinar los anticuerpos en animales en estadios de enfermedad crónicos, incluso 3 años post-infección, en ausencia de septicemia, en estadios tempranos de la enfermedad la AGID basada en Ag., citoplasmáticos detectan

precipitinas en etapas posteriores de la infección a diferencia del AGID basado en antígeno de superficie (34).

Las principales desventajas de esta prueba es que otorga un diagnóstico más demorado, obteniendo resultados a las 72 horas y la dificultad en la interpretación en pacientes crónicos (18).

1.2.11.5. Inmunocromatografía

Esta prueba presenta una sensibilidad del 95.8% y una especificidad del 99.7%, lo que la convierte en una técnica de diagnóstico práctica, rápida y precisa para la detección cualitativa de anticuerpos en comparación con otras pruebas serológicas y bacteriológicas de *B. canis*, esta técnica detecta los anticuerpos en la sangre tres semanas post infección, en ciertos casos incluso después de dos semanas (32).

Las pruebas serológicas los antígenos utilizados cuentan con distintas proteínas somáticas, así como mecanismos de superficie, estas tienen semejanzas antigénicas entre las especies del mismo género tales como *B. canis*, *B. ovis*, *B. suis*, *B. abortus*, existen los falsos positivos por reacción cruzada entre las especies y otras bacterias patógenas tales como *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* y *E. coli* (10).

1.2.11.6. Rosa de Bengala

Esta prueba es considerada útil dada a su alta sensibilidad, la desventaja es que puede dar falsos negativos, en ciertas ocasiones (35). Tanto como la prueba de Rosa de Bengala como la de ELISA, son técnicas de diagnóstico comunes, la desventaja de estas pruebas es la falta de sensibilidad específica debido a la reacción cruzada con otros patógenos (36).

La técnica de Rosa de Bengala aplicada a la Brucelosis constituye un ensayo serológico empleado para la detección de anticuerpos dirigidos específicamente contra *Brucella spp.*, esta técnica se utiliza ampliamente en el análisis de muestras biológicas como suero o plasma, donde la presencia de anticuerpos específicos se revela a través de la aglutinación de partículas de Rosa de Bengala recubiertas con antígenos de *Brucella*, la aglutinación confirma la presencia de anticuerpos específicos a *Brucella spp.*, lo que sugiere una infección activa; la no presencia de aglutinación puede interpretarse a una ausencia de anticuerpos o a una etapa muy temprana de la enfermedad; las limitaciones que nos

presenta esta técnica son la no distinción entre especies de *Brucella*, ni tampoco información sobre la fase en la que se encuentra la infección, además los resultados obtenidos pueden ser falsos positivos debido a la reactividad cruzada con otros microorganismo o a la presencia de anticuerpos no específicos (53).

1.2.11.7. ELISA

El método de ELISA se considera una de las mejores alternativas para el diagnóstico de esta enfermedad, a pesar de que puede tardar 12 semanas en detectar la positividad tras la infección. La técnica de ELISA indirecta (ELISA) se utiliza con el fin de detectar la presencia de anticuerpos IgG o IgM específicos del antígeno, esta prueba es considerada como una prueba de confirmación (25), esta técnica posee una sensibilidad del 40-90% y una especificidad del 60-100% (33).

Diversos autores han recomendado la utilización de esta técnica, para la identificación de anticuerpos de *B. canis*, aunque se han reportado resultados variables utilizando antígenos de la pared celular (31).

1.2.11.7.1. Elisa indirecta

Durante un proceso infeccioso, dentro del huésped se genera una respuesta inmunológica produciendo así inmunoglobulinas G (IgG) en el plasma y estas se unirán posteriormente al agente infectante (42,43). Si los anticuerpos se hayan en la muestra, estos se unirán a los antígenos encontrados en los pocillos de la microplaca y permanecerán allí incluso tras el lavado logrando así su detección (43). Los anticuerpos son a un grupo de proteínas séricas que se denominadas globulinas, las cuales están compuestos por cadenas polipeptídicas pesadas y ligeras; por lo general cuando existe la presencia de un antígeno, se producirán anticuerpos, estos anticuerpos obtenidos específicos son denominados como anticuerpos policlonales los cuales presentan una estructura heterogénea y presentan capacidad variadas para la unión con antígenos (44); por otra parte los anticuerpos que son altamente afines a antígenos no específicos suelen presentar reacciones de tipo cruzadas que no son deseadas como falsos negativos (46); en cambio, los anticuerpos con baja afinidad no siempre son lo suficientemente sensibles, por lo tanto sus resultados no serán completamente precisos (45).

La técnica de ELISA tiene diversas variantes para la detección y cuantificación de ligados con un alto peso molecular, donde el marcador enzimático que ha sido utilizado se conjuga con un ligando que puede ser un antígeno o un anticuerpo específico para el antígeno (49). En la mayoría de los ensayos de ELISA se absorberá sea un antígeno o un anticuerpo en un soporte sólido; aunque, algunos se centran en la reacción de enlaces competitivos y otros en reacciones de enlaces no competitivos. En todas las pruebas es necesario eliminar el conjugado enzimático libre, a esto se lo conoce como paso de separación donde se añadirá un sustrato enzimático y así se podrá medir la reacción entre la enzima que son marcadores muy sensibles y el sustrato, de esta forma se puede determinar la cantidad del conjugado enzimático enlazado (49).

Tratamiento

Para el tratamiento de la *B. canis* no se ha determinado un protocolo con antibióticos aprobado mundialmente, estudios han demostrado que la combinación de antibióticos resulta más efectiva que la administración de un solo fármaco, hasta la fecha no se ha podido definir una combinación de antibióticos soberana, la duración del tratamiento para lograr disminuir los signos y síntomas es una cuestión también indefinida. (37).

La terapéutica administrada no es 100% efectiva para eliminar la bacteria, el animal infectado puede presentar picos cíclicos de una septicemia al finalizar el tratamiento, esto representa un peligro de exposición de la enfermedad a otros individuos (38).

Estudios realizados de manera in vitro de distintos fármacos han determinado que la *B. Canis* es sensible ante fármacos como las tetraciclinas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas, lamentablemente los resultados in vitro no determinan la eficacia in vivo, estudios sugieren la administración de tetraciclinas diarias VO, por 1 o 2 meses asociado con aminoglucósidos tales como la dihidroestreptomicina, estreptomicina o gentamicina por vía parenteral por 1 durante 1 a 2 semanas y luego cada 3 a 4 semanas, estas combinaciones demostraron altos niveles porcentuales de recuperación de los animales con seronegatividad (39).

1.2.12. Control

Una de las alternativas para controlar la diseminación es la eutanasia de los perros contagiados para así minimizar el riesgo de una zoonosis, debido al vínculo mascota-dueño no siempre es posible la realización de esta práctica, al presente no se encuentra

una vacuna para el control de la *B. canis*, las vacunas en el mercado aplicadas en el ganado vacuno poseen una virulencia residual y están contraindicadas en caninos (40).

Al día de hoy los controles van orientados hacia la vacunación, educación, normas de bioseguridad, sin embargo, todos estos puntos mencionados no han logrado una disminución significativa de la bacteria, esto se debe principalmente a los costos (41).

1.3.Brucelosis canina en el Ecuador

En el Ecuador de acuerdo a diversas investigaciones que se realizó en algunos cantones de este país con la finalidad de determinar la prevalencia y factores de riesgo de *Brucella canis* en perros, sin embargo a pesar de las investigaciones y controles que se han realizado para la detección y erradicación de la Brucelosis en caninos domésticos se visualiza desconocimiento en ciertos sectores debido a la falta de investigación en ciertas zonas donde no se aplica un correcto control sanitario, los estudios que se han realizado mediante los resultados obtenidos serán beneficiosos por que permiten visualizar valores estadísticos de esta especie animal y así poder erradicar esta enfermedad infecto contagiosa.

En la parroquia San Juan de Pastocalle, en Latacunga, Cotopaxi. Velazco 2018, mediante un test de kit evalúa la presencia de Brucelosis en de 75 caninos, de los cuales 14.60% interactúan con bovinos de forma esporádica, el 77.33% se alimentan de comida casera, el 85.33% no tiene control veterinario, la prevalencia presentada fue de 0%, determinando que no influyen los factores asociados para contraer la enfermedad; resultados similares a los obtenidos por Chicaiza, 2019, en la misma parroquia, cantón y provincia, donde trato un número similar de muestras de 75 caninos mediante *Brucella* ab test kit, estableciendo además posibles factores asociados a la enfermedad tales como: número de perras abortivas, patologías dentro del lapso de gestación, ingesta de lácteos de bovinos, entorno de hazienda de los caninos, disponibilidad de alimento y convivencia con otras especies, obteniendo un 0% de positivos. Valores algo similares a los presentados por Salguero et al, 2018, que, en su investigación realizada en el centro urbano de Sangolquí en la ciudad de Quito, con el propósito de determinar el riesgo zoonótico de la enfermedad en la zona mediante el método de huddleson, de 133 muestras se obtuvieron 2 seropositivos. Por otra parte, se observan resultados muy distintos a los obtenidos en el estudio efectuado por Páez, 2021, en el cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi de 316 muestras evaluadas utilizando los métodos de inmunocromatografía de flujo lateral

(LFIA) e indirecta (IFA), donde las variables machos y hembras en edades reproductivas, de 216 hembras 178 (10.67%) y 38 machos (13.15%) resultaron positivos, raza de 165 mestizos (10.30%) y 51 de otras razas (13.75%) positivos; edades 1 a 2 años de 102 (11.76%), de 2 a 5 años 93 (10.75%), mayores a 5 años 21 (9.52%) fueron positivos; e historial reproductivo de 201, animales catalogados normales (8.45%) y 15 anormales (46.66%) se describen como positivos. De 100 muestras procesadas con IFI, en la variable sexo, hembras 81 (14.81%) y 19 machos (10.52%); en la raza, de 71 mestizos (15.49%) y 29 de otras razas (10.34%) son positivos; en relación con la edad de 1 a 2 años, 51 (9.80%), de 2 a 5 años 40 (17.5%) y mayores a 5 años 9 (22.22%) resultaron positivos; acorde a su historial reproductivo, de animales considerados normales 94 (14.89%) y considerados anormales 6 (0%) se reportan como positivos, siendo valores muy distintos a los obtenidos en el cantón Latacunga en los años 2018 por Velazco y 2019 por Chicaiza. Sin embargo se observan valores similares a los obtenidos por Galarza, 2021, en refugios pertenecientes al cantón Cuenca, provincia del Azuay, donde evalúa los factores predisponentes a la enfermedad, al tratar 166 perros muestras de caninos provenientes de 5 refugios mediante inmunocromatografía, donde los resultados obtenidos demuestran una prevalencia de 6%; además, la seroprevalencia de los resultados varió según el refugio, donde demostraron el refugio 3 (13%), refugio 4 (11%), refugio 1 (4%) y los refugios 2 y 5 (0%), en dicha investigación se descarta la asociación entre factores de desnutrición, animales parasitados, caninos rurales. El análisis de probabilidad indica que preñez (21.14%), presencia de crías (11.77%), aborto (10.13%) y presencia de esto, son factores que posiblemente predisponen a la presencia de animales serotipos positivos, evidenciando así el contacto entre perros procedentes de refugios con la bacteria *B. canis*.

CAPITULO 2: METODOLOGÍA

2.1. Tipo de estudio

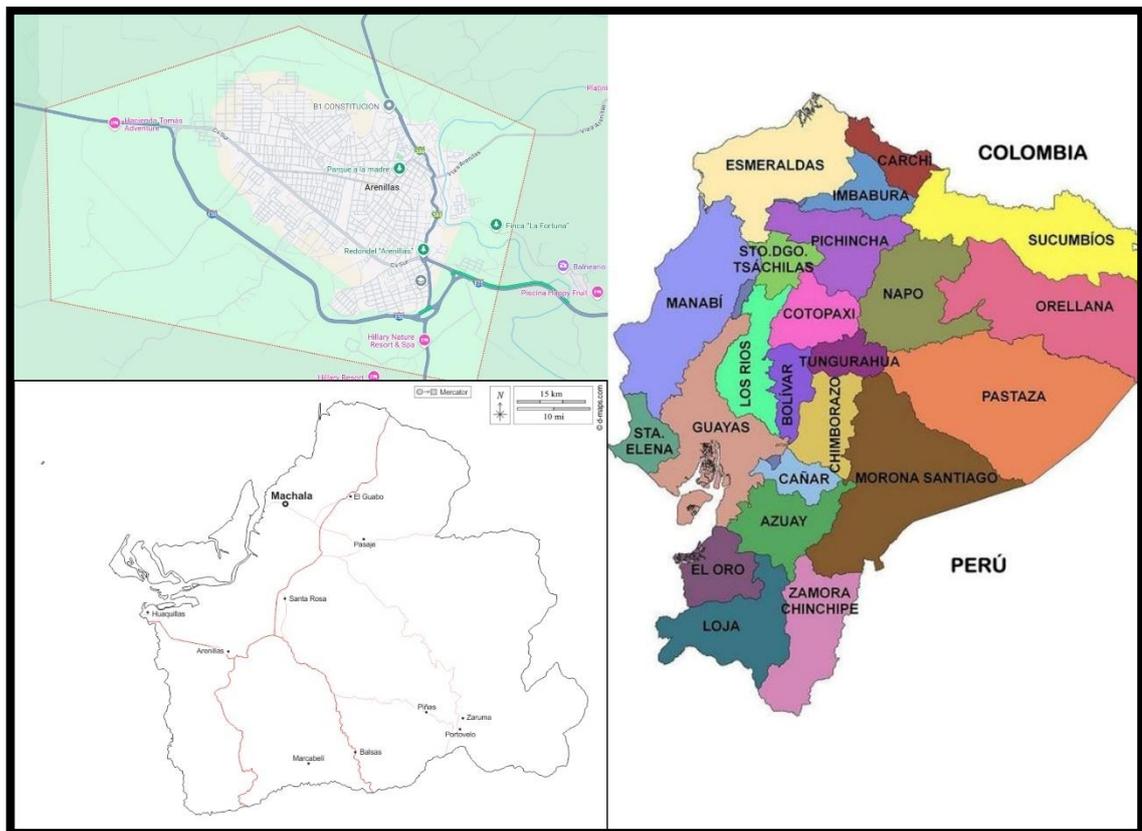
Este estudio emplea un enfoque descriptivo con el objetivo de determinar la prevalencia de *Brucella canis* utilizando dos métodos específicos. Además, es observacional, ya que se enfoca en la observación y medición de la enfermedad sin intervenir en el entorno del estudio. Y también, es de naturaleza transversal, puesto que implica la recolección de datos en un único punto temporal en el cantón Arenillas, sin realizar un seguimiento continuo a lo largo del tiempo.

2.2. Paradigma

El paradigma de la presente investigación es positivismo lógico caracterizado por la objetividad, la medición precisa de este patógeno.

2.3. Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en El Cantón Arenillas, este se localiza al Suroccidente del Ecuador, limita al norte con Santa Rosa a nivel del Estero Jumón a una latitud de 03°23' Sur y una longitud de 80°02' Oeste, al sur, colinda con las lajas a nivel del sitio Moquillada, ubicada a 03°46' de latitud Sur y 80°09' de longitud Oeste, hacia el este, en las cercanías del sitio El Carmen y limitando con Piñas, presenta una latitud 03°40' Sur y una longitud de 79°55' Oeste, al oeste, en el hito el Huaco, junto al Rio Zarumilla y en el límite con Perú, se encuentra a una latitud de 03°34' Sur y una longitud de 80°13'.



Grafica 2 Ubicación Cantón Arenillas, Provincia de El Oro

2.4. Selección

Para esta investigación se empleó 100 caninos ($n=100$), caninos a quienes se llevó a cabo una evaluación de diversas características antropométricas, incluyendo variabilidad de raza, edad, peso y tamaño corporal; seguido de un examen físico generalizado con el propósito de determinar el estado del paciente y sus constantes fisiológicas para completar una base de datos detallada de los mismos mediante un formulario clínico.

2.5. Población y muestra

2.5.1. Población

Debido a que en la actualidad no existe un censo de la población canina en el cantón Arenillas, la cual tiene una población de habitantes de 26.884, se optó por aplicar el criterio establecido por el Ministerio de Salud Pública.

De acuerdo a lo establecido por la Dirección Distrital 07D05 Arenillas-Huaquillas-Las Lajas del Ministerio de Salud Pública, el número total de animales vacunados contraidita

durante el periodo 2022 al 2023 en el Cantón Arenillas fue un total de 4521 perros, a lo cual se tomaron en consideración como la población total de estudio para esta investigación partiendo de aquí se aplicó la fórmula para muestreo de una población finita con un porcentaje de error del 10% y una confiabilidad del 99% dando como resultado una cantidad total de 100 muestras, como se demostró en la aplicación de la fórmula.

2.5.2. Muestra

Se realizó un muestreo hematológico de caninos de dos clínicas veterinarias en el Cantón Arenillas. Para calcular el número total de muestras, se aplicó la fórmula descrita por Simeon Pickers (Pickers, 2015).

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

Donde:

n: Tamaño de la muestra: 100

N: Tamaño de la población: 4521

p: población a favor: 0,5

q: población en contra: 0,5

Z: nivel de confianza: 95% = 1,96

d = margen de error: 10% = 0,1.

$$n = \frac{4521 * 1,96^2 * 0,5 * 0,5}{0,1^2 * (4521 - 1) + 1,96^2 * 0,5 * 0,5} = 94$$

En base a este resultado, se pudo inferir que, con una confianza del 95% y un margen de error del 10%, la muestra seleccionada se considera representativa en relación con la totalidad de la población de animales muestreados en el Cantón Arenillas. Esto implicó que los descubrimientos obtenidos de la muestra pueden ser generalizados a toda la población. Además, al tratarse de un estudio en el cual disponíamos de reactivos de manera limitada pero suficiente para 100 animales, se decidió tomar como referencia este último valor para la muestra final, es decir (n=100).

2.5.3. Criterios de Exclusión e inclusión

Criterios de exclusión:

- Caninos que no pertenezcan al cantón Arenillas.

Criterios de inclusión:

- Todos los perros en edades de 2 meses a 11 años.
- Caninos que vivan en el cantón Arenillas.

1.3.1. Variables de estudio

- Edad
- Raza
- Sexo

2.6. Método

2.6.1. Metodología de campo (toma y conservación de muestra):

- 1) Se utilizó un torniquete para ubicar la vena cefálica, luego se desinfectó el área correspondiente y extrajo de 2-3 ml de sangre en canes de raza mediana a grande y 1 ml en perros de raza pequeña, en un tubo tapa roja.
- 2) Se colocó las muestras en la centrifuga a 3000 revoluciones por 5 min.
- 3) Se extrajo 1.5 ml de suero en un tubo Eppendorf.
- 4) Se rotuló cada tubo de suero y se lo congeló a -21°.

2.6.2. Metodología de laboratorio

2.6.2.1. Rosa de Bengala

Esta técnica de aglutinación en placa permitió identificar cualitativa y semi cuantitativamente la presencia de anticuerpos *anti-Brucella*. La suspensión bacteriana coloreada se aglutina en presencia de anticuerpos IgG o IgM en el suero. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones proporcionadas por el proveedor comercial.

2.6.2.1.1. Validación

Se empleó controles positivos y negativos para verificar la efectividad del reactivo, así como un estándar de comparación para la evaluación de los resultados. Cualquier resultado que difiera del obtenido con el control negativo será considerado como positivo.

2.6.2.1.2. Interpretación

En ausencia de anticuerpos no existe aglutinación por lo que se descartó la presencia del patógeno.

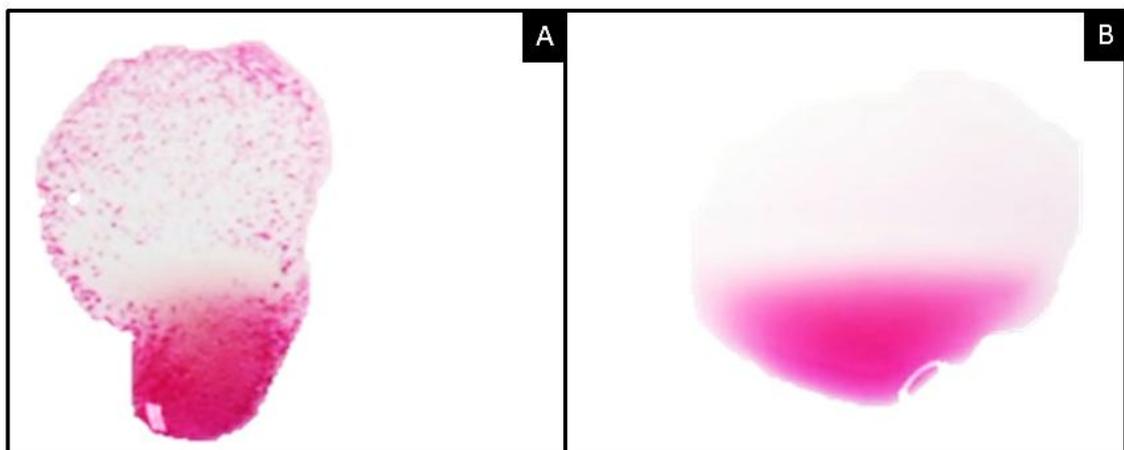


Gráfico N° 8: Interpretación de resultado a la prueba serológica Rosa de Bengala. Figura A es resultado Positivo; Figura B es resultado negativo (61)

2.6.2.2.ELISA Indirecta

2.6.2.2.1. Preparación de los Reactivos para una microplaca de análisis (96 reacciones):

a. Solución de lavado

- Se preparó 400ml de solución de lavado 1X y se agregó 40ml de solución de lavado 10X a 360ml de agua destilada, volumen suficiente para procesar una microplaca completa incluyendo la dilución del conjugado IgG y los lavados.
- Se mezcló muy bien antes de usar, una vez preparada la solución de lavado 1X esta se puede conservar a 2-8°C durante 7 días.

b. Conjugado

- Se diluyó 1/10 utilizando la solución de lavado 1X y homogeneizamos muy bien

2.6.2.2.2. Preparación de los controles para una microplaca de análisis (96 reacciones).

a. Control Positivo y Control Negativo

- En tubos de 1.5 ml se agregó 5 µL de cada control a 495 µL de diluyente de la muestra (dilución 1/100) y se mezcló bien.
- Se agregó 25 µL de la dilución anterior a 75 µL de diluyente de la muestra (dilución ¼, factor de dilución final de los controles = 1/400) previamente cargados en los pocillos correspondientes y se mezcló subiendo y bajando con la micropipeta al menos 5 veces.
- En cada microplaca los controles positivo y negativo se agregó al menos por duplicado.

b. Blanco de Muestra

- En cada placa se agregó un blanco de muestra constituido por el Diluyente de la muestra, dispersando directamente y por duplicado, 100 µL por pocillo.

2.6.2.2.3. Preparación de las Muestras:

- Las muestras de suero fueron diluidas 1/400 utilizando el diluyente específico para ellos, en tubos de 1.5 ml se agregó 5 µL de suero con 495 µL de diluyente de muestra (diluciones 1/100) y se mezcló bien.

- Se agregó 25 μL de la dilución anterior a 75 μL de diluyente de la muestra (dilución $\frac{1}{4}$, factor de dilución final de las muestras= $\frac{1}{400}$) previamente cargados en los pocillos correspondientes y se mezcló bien subiendo y bajando con la micropipeta al menos 5 veces.

2.6.2.2.4. Instrucciones de Uso para Microplaca de Análisis.

- Se dejó que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20-25°C), no se retiró la placa de su envoltorio hasta que haya alcanzado la temperatura ambiente, pero si no se utilizó toda la placa, se separa únicamente los strips de 8 pocillos necesarios para analizar los controles y las muestras. Se guardó el resto de los strips, junto con los desecantes en una bolsa de polietileno con cierre hermético incluyendo el kit y se lo almacenó en el refrigerador (2-8°C).
- Se procesaron los controles correspondientes (controles positivos, controles negativos y blanco de muestra).
- Se procesaron las muestras de suero.
- Se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente (20-25°C) con agitación orbital suave durante 1 hora.
- Se lavó 5 veces con 200 a 300 μL de solución de lavado 1X por pocillo.
- Se agregó 100 μL de conjugado a cada pocillo, se cubrió la placa e incubó a temperatura ambiente (20-25°C) con agitación orbital suave durante 1 hora.
- Se lavó 5 veces con 200 a 300 μL de solución de lavado 1X por pocillo.
- Se agregó 100 μL de solución de sustrato-cromógeno en cada pocillo e incubó con agitación orbital suave durante 10 minutos (\pm 1 minuto) a temperatura ambiente (20-25°C) y en oscuridad.
- Se detuvo la reacción agregando 100 μL de solución de frenado en cada pocillo cuidadosamente, donde se aplicó ligeramente golpes en los bordes de la placa.
- Se midió la absorbancia a 450 nm donde se utilizó un espectrofotómetro de placa.

2.6.2.2.5. Expresión de los Resultados

- Los resultados se expresaron como porcentaje de reactividad (PR), con respecto al control positivo (CP) con respecto al control negativo (CN) incluido en cada ensayo, los valores de absorbancia medidos a 450 nm (Abs450) de cada muestra se relacionan con el valor de Abs450 de CP de la siguiente forma:

$$PR_{muestra} = \frac{Abs\ 450\ Muestra}{Promedio\ Abs\ 450\ CP} \times 100$$

2.6.2.2.6. Criterios de Validez de la Prueba

Para confirmar la validez del ensayo se debió cumplir los siguientes criterios:

- El valor del promedio de Abs450 del CP debe ser mayor a 1.0 (promedio de Abs450 CP > 1)
- Los valores de Abs450 de los duplicados de los controles (CP y CN) y las muestras no deben diferir en más del 20% con respecto al promedio del duplicado)
- Los valores de Abs450 del blanco de muestra (Blc Mtra) deben ser inferiores a 0.1 (Abs450 Blc Mtra < 0.1)
- El valor promedio de la Abs450 del CN debe ser menor a 0.15 (Promedio Abs450 CN < 0.15)
- El valor promedio de la Abs450 CP/ Promedio Abs450 CN debe ser mayor a 6 (Promedio Abs450 CP/ Promedio Abs450 CN > 6).

2.6.2.2.7. Interpretación de los Resultados

Tabla 2. Interpretación de resultados a B. Canis por Elisa Indirecta.

PR	Interpretación
$\leq 32\%$	Negativo
$>32\% \leq 51\%$	Indeterminado

>51%	Positivo
------	----------

Fuente: Elaboración propia.

CAPITULO 3: RESULTADOS

3.1.Determinación de la prevalencia de Brucelosis canina por medio de ELISA.

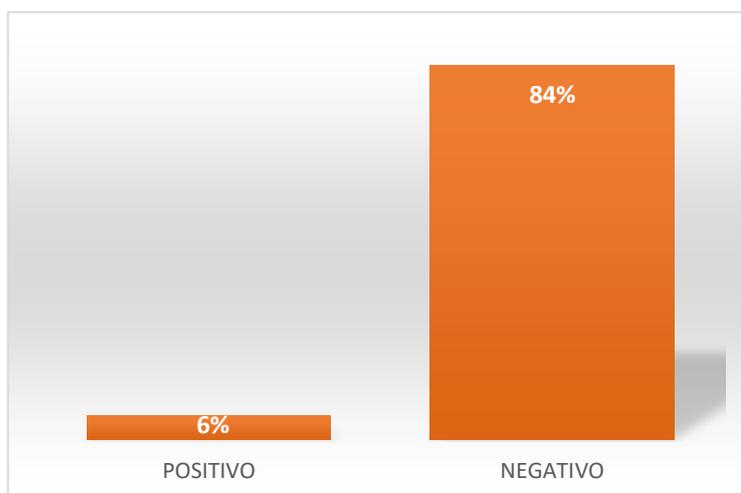
De la totalidad de 100 animales muestreados, se detectaron 6 animales positivos equivalente al 6% (6/100). Así mismo se encontraron un total de 10 sueros indeterminados que representaron el 10% y con un total de 84 de 100 sueros negativos representando el 84%. Cabe mencionar que el porcentaje de indeterminados para este estudio de caso se consideraron negativos debido a la incertidumbre inherente asociada con estos resultados, quedando un total de 6 % de positividad y en 84% de negatividad a la presencia de anticuerpos contra *Brucellas canis* que se observa en la tabla 3 y en el gráfico 3.

Tabla 3. Prevalencia de *B. Canis* mediante técnica de ELISA.

ELISA	Población	Porcentaje
Positivos	6	6%
Negativos	94	84%
TOTAL	100	100%

Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 1. Prevalencia de *B. Canis* mediante técnica de ELISA



Fuente: Elaboración propia.

3.2. Determinación de la prevalencia de brucelosis canina por medio de la rosa de bengala

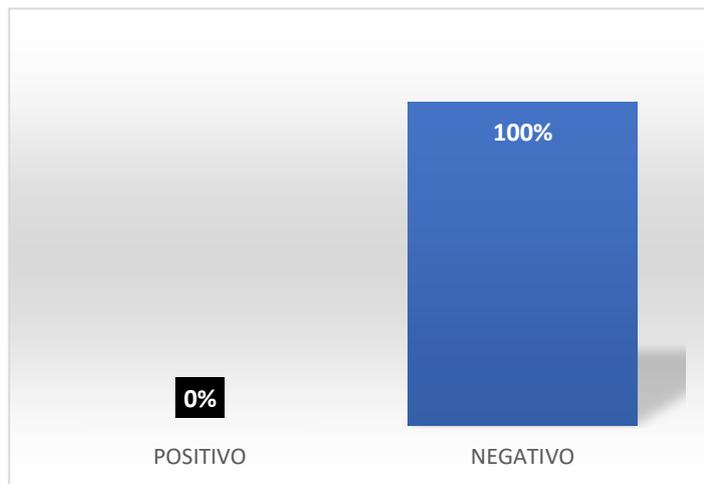
De la totalidad de 100 animales muestreados, considerando el análisis de variables como raza, edad y sexo utilizando la técnica de Rosa de Bengala, que representa el 0% de positividad de *Brucella abortus*, equivalente al 0%; resultados que se observan en la tabla 4 y grafico 4

Tabla 4. Prevalencia de *B. abortus* mediante técnica de Rosa de Bengala.

ROSA DE BENGALA	Población	Porcentaje
Positivos	0	0%
Negativos	100	100%
TOTAL	100	100%

Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 2. Prevalencia de *B. abortus* mediante técnica de Rosa de Bengala.



Fuente: Elaboración propia.

3.3. Factor asociado a la variable sexo de los animales muestreados mediante técnica de ELISA

Dentro de la variable sexo, se examinaron 42 machos de los cuales cinco mostraron resultados positivos, representando el 5/42 (11.99%), mientras que el 37/42 (88.09%) fueron negativos. Por otra parte, las hembras representan un total de 58 muestras de las cuales una resultó positivo 1/58 (1.72%) y 57/58 (98.28%) fueron negativas; por lo tanto, las hembras representan 1% (1/100) y los machos 5% (5/100) del total de los casos positivos de *Brucella canis* mediante la técnica de ELISA indirecta. Tabla 5 y Grafico 5.

Tabla 5. Prevalencia de *B. canis* en relación con la Variable sexo mediante técnica de Elisa.

SEXO	Negativo	Porcentaje	Positivo	Porcentaje	Total general
Hembra	57	55%	1	1%	58
Macho	37	37%	5	5%	42
Total general	94	94%	6	6%	100

Fuente: Elaboración propia.

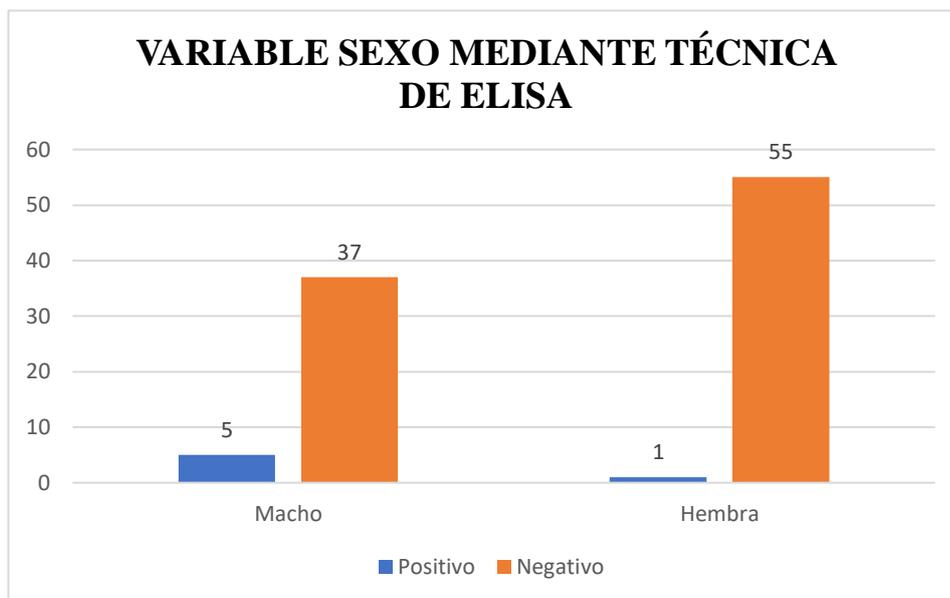
Tabla 6. Prevalencia de *B. canis* en relación con el sexo de los caninos mediante técnica de Elisa.

SEXO		Presencia de <i>B. canis</i>		TOTAL
		Si	No	
MACHO	Recuento	5	37	42
	% presencia <i>B. canis</i>	83.3	39.4	42
	% del total	5	37	42
HEMBRA	Recuento	1	57	58
	% presencia <i>B. canis</i>	16.7	60.6	58
	% del total	1	57	58
TOTAL	Recuento	6	94	100
	% presencia <i>B. canis</i>	100	100	100
	% del total	6	94	100

Fuente: Elaboración propia

La cohesión entre los resultados obtenidos podría sugerir una posible predisposición diferencial entre machos y hembra a la infección por *B. canis*, lo cual podría o no relacionarse con factores comportamentales, reproductivos e inmunológicos de cada sexo.

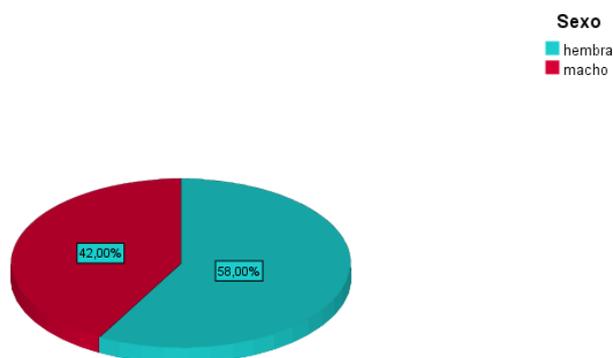
Gráfica 3. Prevalencia de *B. canis* en relación con la variable sexo mediante técnica de Elisa.



Fuente: Elaboración propia.

En lo que respecta a la **variable sexo** de los animales, el 42 % son machos y 58 % son hembras, lo que indica un aporte equilibrado de esta variable a la muestra.

Gráfica 4. Distribución de la variable sexo



Fuente: Elaboración propia

3.4.Factor asociado a la variable edad de los animales muestreados mediante técnica de ELISA

En cuanto a esta variable se determinó que, de los 100 canes muestreados, dos en el rango de edad de dos a 11 meses resultaron positivos, lo que representa el 33.33%. En el grupo de canes de uno a 3 años, cuatro fueron positivos, lo que equivale al 66.67%. (Tabla 7)

De los 100 animales muestreados, las edades que fluctúan de 2 a 11 meses corresponden al 21% de total animales 21/100, de los cuales resultaron 2 positivos, de 3 y 10 meses respectivamente, representando el 33.33% de los resultados totales; por otra parte 19/21 (90.48%) resultados negativos. (Tabla 7 y Grafico 7)

Edades de uno a tres años, que representan el 51% del total de las muestras 51/100, cuatro de los resultados fueron positivos 4/51 (7.84%), uno de un año y medio 1/51 (1.97%), dos de dos años 2/51 (3.92%) y uno de tres años y medio de edad 1/51 (1.97%), los cuales representan el 66.67% del total de casos positivos. (Tabla 7 y Grafico 7)

En cuanto a las edades de cuatro a seis años que corresponden al 22/100 (22%) y las edades de 8 a 11 años 6/100 (6%) que corresponden al total de animales muestreados, los resultados obtenidos en estos grupos, todos fueron negativos. (Tabla 7 y Grafico 7) Se puede deducir que las edades en mayor riesgo corresponden a etapas reproductivas activas de uno a tres años 4/51; aunque no se exceptuar edades más tempranas de dos a 11 meses 2/21 como los obtenidos en este estudio; por lo que se debe considerar evaluar la predisposición de otros factores asociados que pueden influir más directamente a la presencia de la enfermedad.

Tabla 7. Prevalencia de *B. canis* en relación con la variable edad mediante técnica de Elisa.

EDAD	Positivos	Porcentaje	Negativos	Porcentaje	Total general
2 a 11 meses	2	2%	19	19%	21
1 a 3 años	4	4%	47	47%	51
4 a 7 años	0	0%	22	22%	22
8 a 11 años	0	0%	6	6%	6
Total general	6	6%	94	94%	100

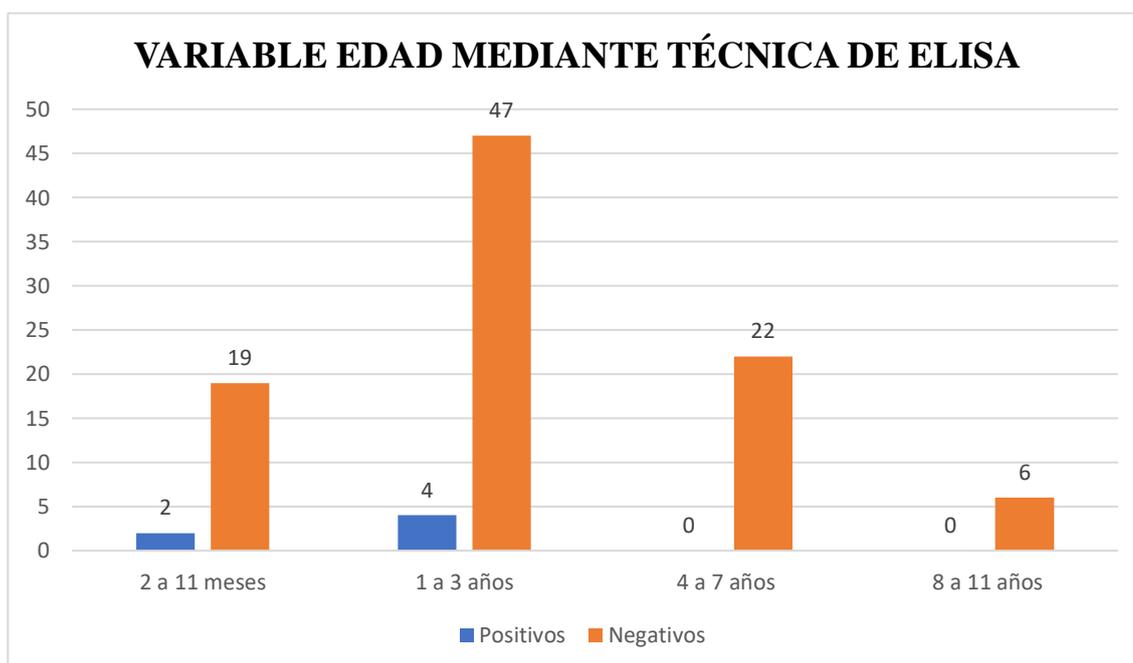
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8. Prevalencia de *B. canis* en relación con la edad de los caninos mediante técnica de Elisa.

EDAD		Presencia de <i>B. canis</i>		TOTAL
		Si	No	
Entre 2 a 11 meses	Recuento	2	19	21
	% presencia <i>B. canis</i>	33.33	28.79	29.17
	% del total	2.77	26.39	29.17
Entre 1 a 3 años	Recuento	4	47	51
	% presencia <i>B. canis</i>	66.67	71.21	70.83
	% del total	5.56	65.28	70.83
TOTAL	Recuento	6	66	72
	% presencia <i>B. canis</i>	100	100	100
	% del total	8.33	91.67	100

Fuente: Elaboración propia

Gráfica 5. Prevalencia de *B. canis* en relación con la variable edad mediante técnica de Elisa.



Fuente: Elaboración propia

En lo que respecta a las **variables, edad y peso**, se observan 100 pacientes en la tabla 9, con un peso que fluctúa entre 1.6 y 54 Kg, como peso mínimo y máximo respectivamente, el peso promedio tuvo un registro de 13.21 Kg; además, la edad mínima de los pacientes fue de meses, alcanzando una edad máxima de 10 años, la edad promedio registrada fue de dos años ocho meses aproximadamente.

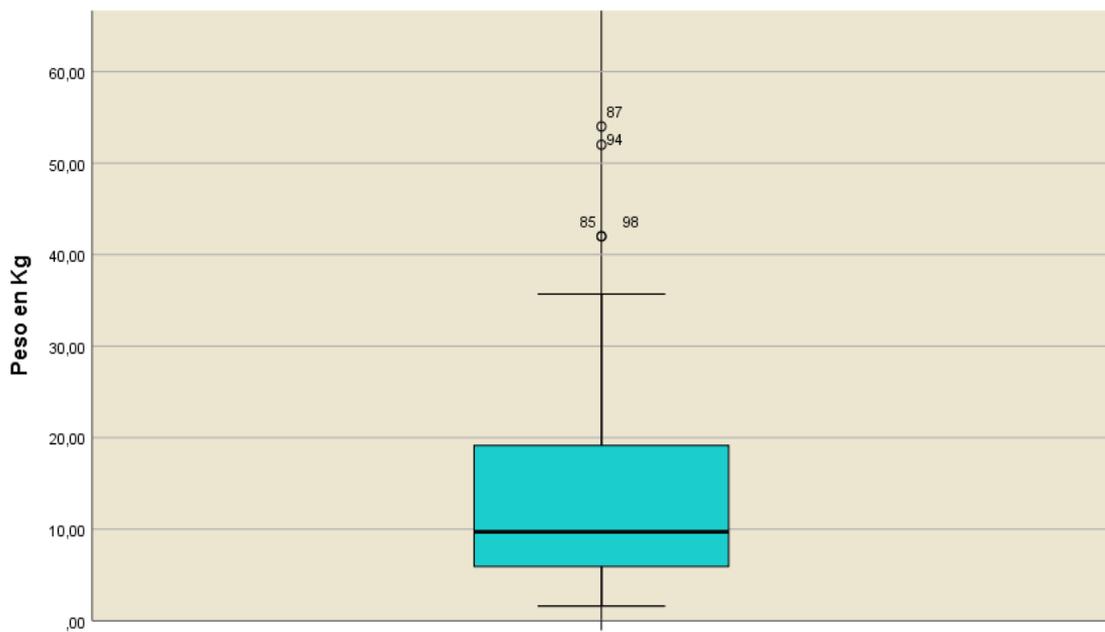
Tabla 9. Estadísticos descriptivos de la edad y el peso de los pacientes.

		Edad en Años	Peso en Kg
N	Válido	100	100
	Perdidos	0	0
Media		2,67417	13,2107
Desv. Desviación		2,263973	10,38656
Asimetría		1,248	1,776
Error estándar de asimetría		0,241	0,241
Curtosis		1,159	3,769
Error estándar de curtosis		0,478	0,478
Mínimo		0,167	1,60
Máximo		10,000	54,00

Fuente: Elaboración propia

Siguiendo con el análisis exploratorio de los datos, se observan a partir del diagrama de cajas del gráfico 8, que la **variable peso** presenta valores atípicos para los pacientes 85, 87, 94 y 95 con pesos de 42, 54, 52 y 42 Kg respectivamente, además se puede observar que la variable posee asimetría positiva y es leptocúrtica, es decir menos apuntada que la normal.

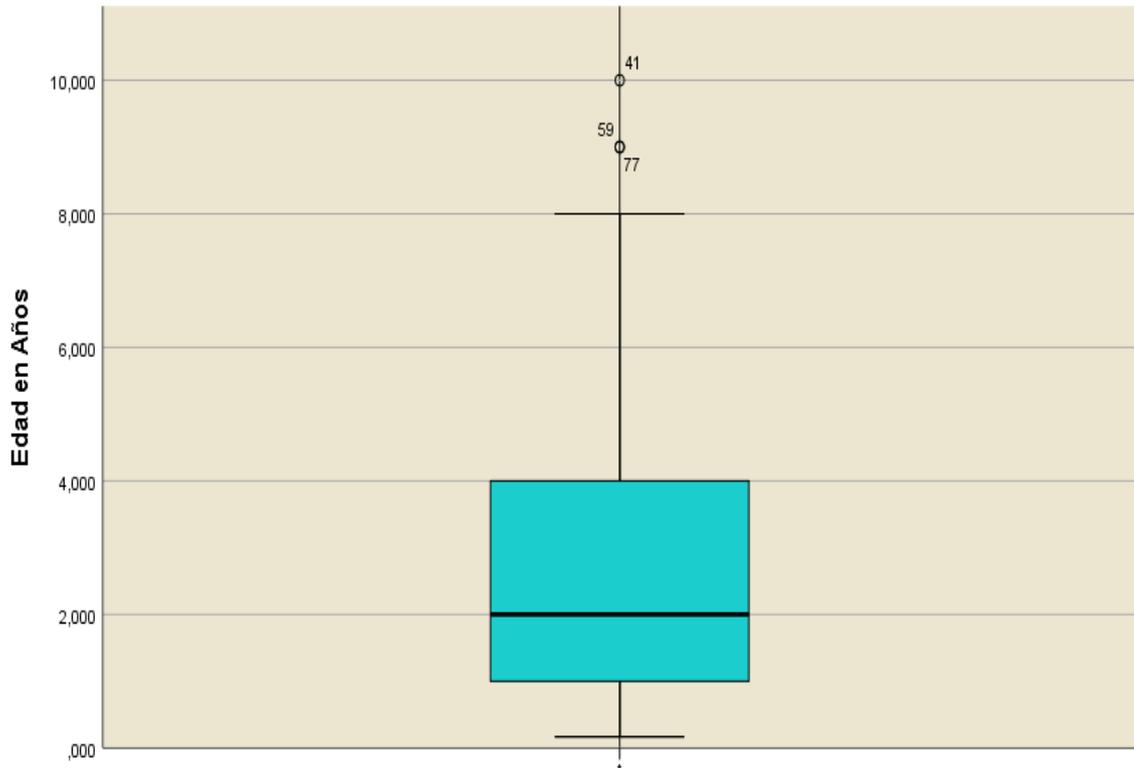
Gráfica 6. Diagrama de cajas para el peso de los animales.



Fuente: Elaboración propia

El gráfico 9 nos proporciona información de la **variable edad**, se observa que existen tres valores atípicos de la edad, registrados en los pacientes 41, 59 y 77, con edades de 10, 9 y 9 años respectivamente, la distribución de la edad también presenta sesgo positivo y en lo que respecta a la curtosis, está es leptocúrtica como el peso.

Gráfica 7. Diagrama de cajas para la edad de los animales.



Fuente: Elaboración propia

3.5. Factor asociado a la variable raza de los animales muestreados mediante técnica de ELISA

En relación con esta variable, se determinó la distribución de la infección por *B. canis* entre diferentes razas de canes muestreados. Los resultados indican que la mayor prevalencia de infección se encuentra en los canes de raza mestiza, con un 66.66%. Asimismo, la infección afecta al 16.67% de los canes de raza Husky Siberiano y al 16.67% de los canes de raza Golden Retriever. Estos hallazgos sugieren una mayor susceptibilidad o exposición de los canes mestizos a la infección por *B. canis* en comparación con las razas específicas mencionadas en la tabla 11.

De los 100 animales muestreados el 66/100 (66%) corresponde a razas mestizas, dentro de este grupo los resultados obtenidos fueron 4/66 (6.06%) y 62 negativos, y representando además el 4/6 (66.67%) de los casos positivos dentro de todas las muestras. La raza Husky, representa el 5/100 (5%) del total de animales muestreados, donde se encontró un caso positivo 1/5 (20%) y 4 negativos, representa, corresponde al 16.67% del total de casos positivos. La raza Golden, representa el 3/100 (3%) de la población de estudio, se presenta un caso positivo en esta raza 1/3 (33.33%) y 2 negativos, representando el 16.67% del total de casos positivos como se observa en la tabla 11 y gráfico 10

El resto de las razas valoradas de este estudio todos los resultados obtenidos fueron negativos, tales como: raza Chiguagua representa el 7/100 (7%), Shih Tzu el 6/100 (6%), Pekinés 3/100 (3%), Bulldog 1/100 (1%), French Poodle 1/100 (1%), Pastor alemán 1/100 (1%), Dachshund 1/100 (1%), Labrador 1/100 (1%), Pitbull 1/100 (1%), Basset hund 2/100 (2%), San bernardo 1/100 (1%), Jack Russell 1/100 (1%), como se observa en la tabla 10 y gráfico 10

Tabla 10. Prevalencia de *B. canis* en relación con la variable raza mediante técnica de Elisa.

Raza	Positivo	Porcentaje	Negativo	Porcentaje	Muestra	Porcentaje
Mestizo	4	4%	62	62%	66	66%
Chihuahua	0	0%	7	7%	7	7%
Shih Tzu	0	0%	6	6%	6	6%
Husky Siberiano	1	1%	4	4%	5	5%
Golden Retriever	1	1%	2	3%	3	3%
Pekinés	0	0%	3	3%	3	3%
Bulldog	0	0%	1	1%	1	1%
French Poodle	0	0%	1	1%	1	1%
Pastor Alemán	0	0%	1	1%	1	1%
Dachshund	0	0%	1	1%	1	1%
Labrador	0	0%	1	1%	1	1%
Pitbull	0	0%	1	1%	1	1%
Basset Hund	0	0%	2	2%	2	2%
San Bernardo	0	0%	1	1%	1	1%
Jack Russell	0	0%	1	1%	1	1%
TOTAL	6	6%	94	94%	100	100%

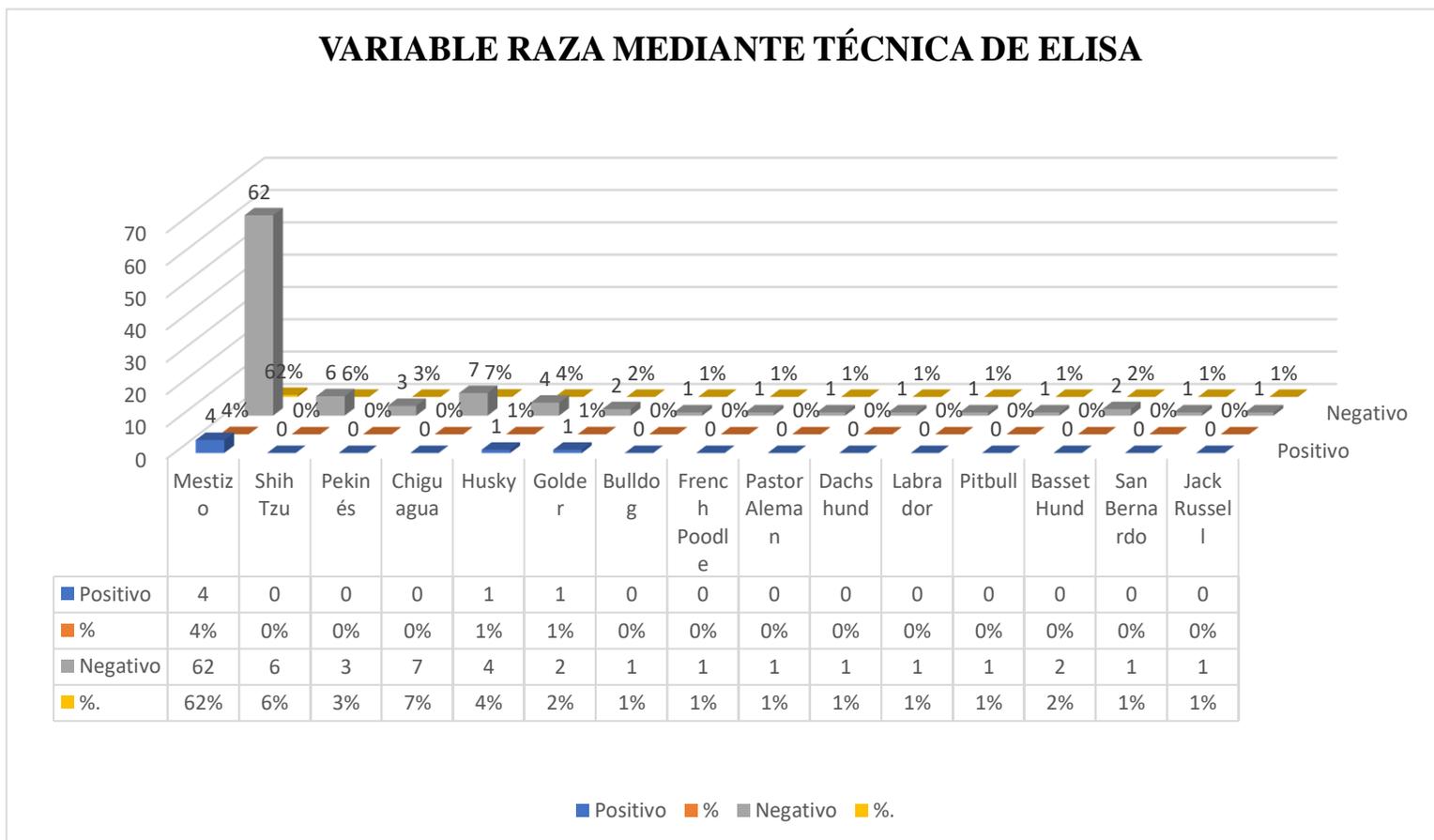
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 11. Prevalencia de *B. canis* en relación con la raza de los caninos mediante técnica de Elisa.

RAZA		Presencia de <i>B. canis</i>		TOTAL
		Si	No	
Mestizo	Recuento	4	62	66
	% presencia <i>B. canis</i>	66.66	91.18	89.19
	% del total	5.41	83.78	89.19
Husky Siberiano	Recuento	1	4	5
	% presencia <i>B. canis</i>	16.67	5.88	6.77
	% del total	1.35	5.41	6.76
Golden Retriever	Recuento	1	2	3
	% presencia <i>B. canis</i>	16.67	2.94	4.05
	% del total	1.35	2.70	4.05
TOTAL	Recuento	6	68	74
	% presencia <i>B. canis</i>	100	100	100
	% del total	8.11	91.89	100

Fuente: Elaboración propia

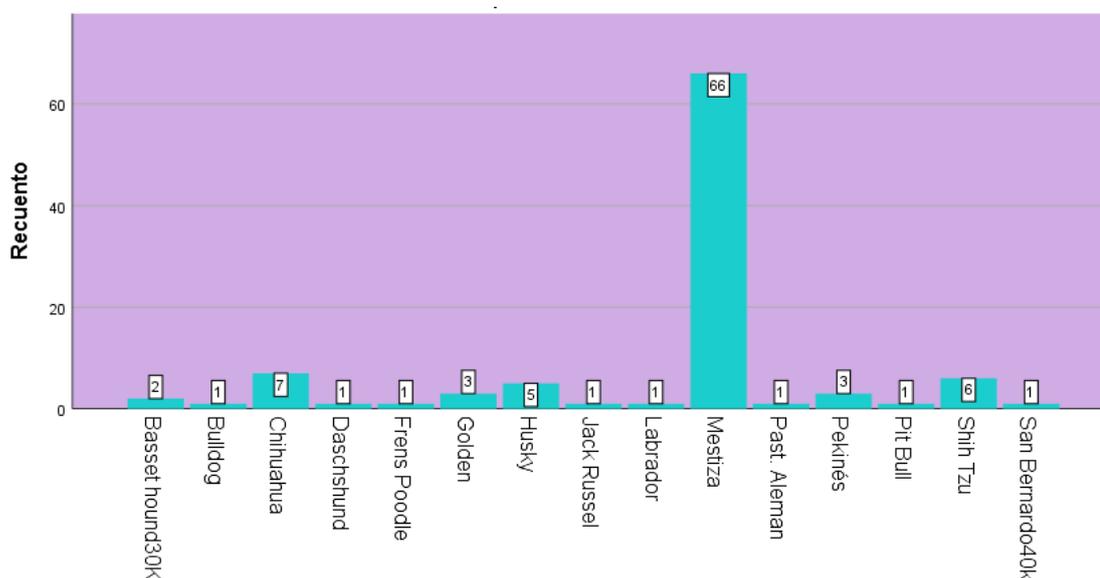
Gráfica 8. Prevalencia de *B. canis* en relación con la variable raza mediante técnica de Elisa.



Fuente: Elaboración propia

En el diagrama de barras del (gráfico 6), se puede observar la distribución de las **razas de los pacientes**, la raza que más presencia en la muestra es la mestiza, con 66 pacientes, seguida de la raza Chihuahua con siete pacientes, cinco Husky, seis Shih Tzu; las razas restantes tienen una frecuencia unitaria.

Gráfica 9. Diagrama de barras: Razas de los animales.



Fuente: Elaboración Propia

Tabla 12. Prueba de chi-cuadrado para la variable sexo y presencia de la enfermedad.

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4,996 ^a	2	,082
Razón de verosimilitud	5,148	2	,076
Asociación lineal por lineal	,724	1	,395
N de casos válidos	100		

a. 3 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,52.

Fuente: Elaboración propia

La tabla 12 nos proporciona el resultado de la prueba de dependencia entre el sexo de los animales y la presencia de la enfermedad, el p-valor que se obtiene de la columna etiquetada como significación bilateral es de 0.076, mayor que el nivel de significancia 0.05, por lo que tomamos la decisión de conservar la hipótesis nula y concluir que el sexo no está asociado con la presencia de la enfermedad.

La prueba de hipótesis para la dependencia entre la edad y la presencia de la enfermedad se detalla a continuación:

Tabla 13. Prueba de chi-cuadrado para las variables edad y presencia de la enfermedad.

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,760 ^a	12	,928
Razón de verosimilitud	7,515	12	,822
Asociación lineal por lineal	,915	1	,339
N de casos válidos	100		

a. 16 casillas (76,2%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,06.

Fuente: Elaboración propia

Con los hallazgos encontrados podemos concluir que el sexo y la edad de los animales no está correlacionada con la presencia de la enfermedad.

Tabla 14. Prueba de chi-cuadrado para las variables raza y presencia de la enfermedad.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	29,219 ^a	28	,402
Razón de verosimilitud	21,888	28	,786
Asociación lineal por lineal	,028	1	,866
N de casos válidos	100		

a. 41 casillas (91,1%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,06.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de las pruebas de chi-cuadrado indican que no hay una asociación significativa entre las variables categóricas analizadas. Además, la alta proporción de casillas con recuentos esperados bajos sugiere que se debe tener precaución al interpretar estos resultados. Se recomienda considerar métodos alternativos de análisis o recolectar más datos para mejorar la confiabilidad del análisis.

CAPITULO 4: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A nivel tanto nacional como local, los estudios sobre la prevalencia de Brucelosis Canina son limitados. En el contexto de Latinoamérica, se han realizado diversos estudios cuyos resultados, aunque presentan una ligera variabilidad en los porcentajes de incidencia, son aproximadamente concordantes con los expuestos en esta investigación. Es bien sabido que la presencia de *Brucella canis* está documentada a nivel mundial. No obstante, algunos artículos reportan presencias bajas o nulas en ciertos sectores aislados. Sin embargo, en países como Perú y Colombia, las tasas de incidencia son similares a las encontradas en esta investigación.

De un total de 100 muestras sanguíneas tomadas a caninos domésticos durante dos campañas de desparasitación; una realizada en la clínica veterinaria “Candi” y la segunda en la clínica veterinaria “Castillo” en el cantón Arenillas, provincia de EL Oro - Ecuador, donde las muestras recogidas fueron sometidas a dos técnicas para determinar la seroprevalencia de Brucelosis canina y los factores asociados en caninos domésticos mediante técnica de Elisa y Rosa de Bengala; donde se emplearon controles positivos y negativos para la evaluación de los resultados, en el caso de la técnica por Rosa de Bengala, en ausencia de anticuerpos no se presentara aglutinación; donde, de las 100 muestras procesadas, 0% obtuvieron resultado positivo, por lo que se descarta la presencia de *Brucella Bovis*. Resultado similar obtenido por Kressler, (2014) Cayambe – Ecuador, cual efectuó un estudio con 118 muestras caninas sometidas a la prueba Rosa de Bengala, donde consideró variables como convivencia de los caninos con otras especies como bovinos y logra determinar un 0% de prevalencia a *B. Bovis*.

Las pruebas se efectuaron entre hembras y machos de forma indistinta, aunque se estableció 4 rangos de edad en la prueba de Elisa indirecta donde se pudo observar un resultado del 4/6 (66.67%) de prevalencia de *Brucella Canis* de los positivos totales, determinando así que la edad de entre uno a tres años puede ser un factor predisponente para contraer la enfermedad Brucelosis canina; resultado que se asemeja a una investigación realizada por Galarza T. (2022) Cuenca – Ecuador, quien obtuvo una seroprevalencia (6%) 10 positivos de 166 canes muestreados, donde seleccionaron variables como sexo, edad, raza y tipo de alimentación, las muestras sometidas a evaluación mediante pruebas de inmunocromatografía (*Anigen C. Brucella Ab*). Además, los resultados obtenidos en la variable edad son semejantes a la investigación realizada

por Maza M. (2016) Lima – Perú, quien determinó una seroprevalencia de 4.86% de *B. Canis* en 288 caninos en un rango de edad de uno a cuatro años; además concluye que este rango de edad puede ser un factor clave de la infección debido al desarrollo fisiológico reproductivo del animal; conclusión que puede cotejarse en esta investigación donde encontramos cuatro casos positivos; en edades superiores a cuatro años no se reportan casos positivos; por lo que no se otorga validez al desarrollo fisiológico reproductivo como un factor de infección definitivo ya que en este estudio se encontraron dos casos positivos 2/6 (33.33%) en edades de 2 a 11 meses de edad. Por otra parte, se observó que la mayoría de los animales que dieron positivo tenían más de un año de edad, lo cual coincide con hallazgos previos de otros autores. Esta observación se justifica por el hecho de que los animales suelen alcanzar la madurez sexual alrededor de esta edad. La madurez sexual aumenta la probabilidad de contacto genital con animales infectados, ya que esta es la principal vía de transmisión de la infección entre los animales. Sin embargo, no se encontró una asociación significativa entre las variables sexo y edad, lo que sugiere que estas no son factores predisponentes para la infección por *B. canis*.

En la variable correspondiente a la raza el 66/100 (66%) pertenece a razas mestizas, de los cuales se obtuvo una seroprevalencia de 66.66%, lo que nos puede indicar una predisposición a contraer enfermedad en razas mestizas, conclusión que coincide con la investigación realizada en Concepción, Paraguay por Colman et al, (2017), donde sus resultados expresan que el 9,6% de positivos a Brucelosis canina el 100% eran mestizas, resultado que comparte Tuemmers et al, (2013), en su investigación realizada en Temuco, Chile, quienes señalan que las razas mestizas tienen un mayor riesgo de infección que los animales de raza, expresión que concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación donde se obtuvo un caso positivo en raza husky siberiano 1/100 y uno en raza Golden 1/100.

Tanto machos como hembras evaluadas dentro de esta investigación, existiendo una población de hembras de 58/100 y de machos 42/100; se registra una seroprevalencia del 83.3% para los machos y 16.7% para las hembras positivo a *B. canis*. Sin embargo, en un estudio realizado por Velasco (2018) logra determinar que los machos presentan una mayor sensibilidad a la infección debido a que en el semen se pueden concentrar *B. Canis*, de 6 a 8 semanas post infección; una vez la bacteria se encuentra en el huésped esta puede eliminarse lentamente por periodos hasta 24 meses, lo que lo convierte en un reservorio a largo plazo de la bacteria; por otra parte en una investigación realizada por Tuemmers

et al (2013), Temuco – Chile de 400 muestreados entre machos y hembras, implementando métodos de inmunocromatografía logran determinar una seroprevalencia de 1% (4/400) donde la mitad eran machos 0.5%, además indica que las costumbres caninas de marcar territorio y olfatear áreas orinadas por otros perros son unos de los principales mecanismos de diseminación de las *Brucellas*, además agrega que no existe una asociación significativa entre sexos, por lo cuales determinan que no son factores predisponentes de *B. canis*. Por otra parte, Colman et al (2016), Concepción – Paraguay en una investigación realizada en 52 muestras de suero sanguíneo de perras de entre 2 a 4 años sin distinción de raza, logran determinar una seroprevalencia de 9.6% a *B. canis* mediante prueba de inmunocromatografía Kit comercial FASTest *Brucella Canis*; mencionando que la madurez sexual de las hembras puede analizarse como un factor de riesgo para contraer la enfermedad debido a la predisposición sexual acorde a su edad en épocas de celo; estos resultados son similares a otros estudios como los reportados por Cárdenas et al, (2017), donde la positividad serológica mediante el análisis de sus datos fue del 93%, además agrega que, pese a que el número de machos era menor en relación al número de hembras, estos presentaron una seropositividad mayor, machos 9.7%, hembras 8.9% en la ciudad de Villavicencio, España. Resultados similares presentados por Ruiz et al, (2010), quienes en su investigación determinaron una seroprevalencia de 9.72% en machos y 5.37% en hembras, en 221 caminos muestreados, en donde 149 fueron hembras y 72 machos en Medellín, Colombia. Por otra parte, los resultados obtenidos en estudio epidemiológico realizado por Ballut et al, 2013 en Montería, Colombia. Se seleccionaron 62 muestras caninas de hembras adultas para determinar anticuerpos contra *Brucella canis*, mediante inmunocromatografía; obteniendo resultados de seroprevalencia de 6,45%; y donde el 88,71% de tuvo historia reproductiva normal y el 11,29% anormal por el reporte de abortos y reabsorciones embrionarias. En cambio, en Antioquia, Colombia, se realizó una investigación en dos albergues caninos por Parker, 2012. Donde seleccionó 54 caninos, 10 de los cuales fueron machos y 44 hembras, muestras que sanguíneas que fueron procesadas mediante inmunocromatografía, donde los resultados obtenidos no demostraron presencia de Brucelosis.

Con los resultados obtenidos durante este estudio, se puede observar una mayor distribución de positivos en edades que convergen entre 2 a 11 meses 2/21 (9.52%) y de 1 a 3 años 4/51 (7.84%), con un p-valor de 0.822, nos indica que es probable que las edades reproductivas del animal sean un factor predisponente para la enfermedad.

Los resultados obtenidos acorde a la variable sexo se observan 5/42 (11.90%) positivos en machos y 1/58 (1.72%) en hembras, con un p-valor de 0.076, nos indica que la probabilidad entre la relación de la enfermedad y el número de casos, puede deberse al comportamiento de los machos de marcar territorio, olfatear e intentos de apareamiento durante los ciclos estrales de las hembras.

En cuanto a los resultados que se obtuvo en base a la variable de razas, se determinó que la mayor cantidad de positivos pertenece al grupo de los mestizos 4/66 (6.06%); los husky 1/5 (20%) y los Golden 1/3 (33.33%), se debe considerar, si bien es cierto, la mayoría de los casos positivos corresponden a los mestizos, también estos corresponden a la mayoría de muestras evaluadas, por lo que se podría presumir que las razas como Golden, son más propensas a infectarse a la enfermedad, debido a que, de 3 muestras, una es positiva; además, los Husky también presentan una elevada positividad, debido a que una de las 5 muestras analizadas, fue positiva.

CONCLUSIONES

Se detectó animales que mostraron positividad a anticuerpos contra *Brucella canis* en el Cantón Arenillas. La prevalencia mediante el uso de Elisa indirecta fue de 6%, donde la población para análisis de resultados fue evaluada en variables de edad, sexo y raza.

De acuerdo a la variable edad, en el intervalo de 2 a 11 meses, que constituye el 21% de la población total, se detectaron dos casos positivos de raza mestiza lo que representa 33.33% del total de casos registrados 2/6, y el 9.52% del rango de edad evaluado 21/100.

Mientras que, en el rango de edades de 1 a 3 años, se identificaron cuatro casos positivos, siendo una macho raza mestiza de un año y medio, un macho de raza Golden de 2 años, un macho de raza Husky de 2 años y un macho de raza mestiza de 3 años y medio, este rango de edad representa el 51/100 (51%) de la población total de estudio, y los casos positivos representan el 66.66% de los casos positivos totales 4/6, y el 4/100 (4%) del total de muestras.

En los factores asociados, se puede determinar que los animales en fase reproductiva latente muestran grados de positividad en la variable edad, independientemente de su sexo. Sin embargo, también se observó un mayor número de casos en razas mestizas, a pesar de que la población de estudio fue mayor 66/100, por lo cual no se puede descartar que el tipo de raza sea un factor determinante para la presencia de la enfermedad; debido

a que la positividad de las muestras representa el 66.66% de los casos positivos a *B. canis* en una población menor en el cantón Arenillas,

El índice de prevalencia de *B. canis* por Rosa de Bengala, en el 100/100 (100%) de las muestras, no se obtuvo resultados positivos 100/100 (0%) verificando la efectividad del reactivo en ausencia de anticuerpos, esta no presenta aglutinación, descartando así la presencia del patógeno.

En base a los resultados obtenidos de la prueba Elisa indirecta se tuvo la necesidad de socializar con los propietarios para concientizar e implementar medidas preventivas y de control y así lograr que proporcionen un mejor cuidado a sus mascotas y detener la propagación de la enfermedad.

RECOMENDACIONES

Se informó los resultados obtenidos a los tutores de cada paciente positivo muestreado, a los cuales se les informó de forma clara y precisa que significa Brucelosis canina, además de las repercusiones y cuidados que debe tener en consideración al manipular al paciente seropositivo dentro del hogar.

Proponer nuevas investigaciones en el área mejorando las técnicas del diagnóstico como moleculares incrementando la población tanto a nivel regional como provincial, ya que estas acciones mejoran la calidad como también la precisión de los diagnósticos, avances del conocimiento en el campo, lo cual beneficia a las personas.

Establecer campañas de información sobre la Brucelosis y el impacto en salud pública, mediante carteles informativos, contenido digital, crear folletos con información clara acerca de la Brucelosis, los síntomas que tiene, modo de transmisión y las medidas de prevención, lo que permitirá aumentar la concientización de la población para reducir su impacto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez-Hernández NE, Diaz Flores M, Ortiz Reynoso M. Brucelosis, una zoonosis frecuente. *ELSERVIER*. 17 de agosto de 2015;10:129-33.
2. Torres JLY, Velóz LVR, Pantoja JET, Martínez JLS. Situación actual de la vigilancia epidemiológica de la zoonosis en Ecuador periodo 2016-2020. *Bol Malariol Salud Ambient*. 23 de febrero de 2021;61(0):2.
3. Liu Y, Sun J, Peng X, Dong H, Qin Y, Shen Q, et al. Deletion of the LuxR-type regulator VjbR in *Brucella canis* affects expression of type IV secretion system and bacterial virulence, and the mutant strain confers protection against *Brucella canis* challenge in mice. *Microb Pathog*. 1 de febrero de 2020;139:103865.
4. Ardoino SM, Baruta DA, Toso RE. Brucelosis canina. *Cienc Vet*. 2017;8(1):50-61.
5. 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 Für Tierheilkd*. 5 de diciembre de 2018;160(12):743-8.
6. Galarza T. Seroprevalencia de brucelosis canina en refugios del cantón Cuenca y sus factores predisponentes [Internet] [Descriptivo]. [Cuenca, Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2022. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/38134/1/Trabajo%20de%20Titulacion.pdf>
7. Sebzda MK, Kauffman LK. Update on *Brucella canis*: Understanding the Past and Preparing for the Future. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1 de septiembre de 2023;53(5):1047-62.
8. van Dijk MAM, Engelsma MY, Visser VXN, Keur I, Holtslag ME, Willems N, et al. Transboundary Spread of *Brucella canis* through Import of Infected Dogs, the Netherlands, November 2016–December 2018. *Emerg Infect Dis*. julio de 2021;27(7):1783-8.
9. Galarce N, Escobar B, Martínez E, Alvarado N, Peralta G, Dettleff P, et al. Prevalence and Genomic Characterization of *Brucella canis* Strains Isolated from Kennels, Household, and Stray Dogs in Chile. *Animals*. noviembre de 2020;10(11):2073.
10. de Oliveira MZD, 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*. 1 de junio de 2011;90(3):425-31.

11. González HB, Ramírez RMP, Castro RF, Güemes FS. Problemas reproductivos en perros machos infectados con *Brucella canis*. *Vet Mex*. 2014;35(2):122-7.
12. Flores LES, Tirado MPS. Brucelosis, revisión bibliográfica. *Cienc Lat Rev Científica Multidiscip*. 28 de febrero de 2023;7(1):6930-44.
13. Dadar M, Shahali Y, Whatmore AM. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention. *Int J Food Microbiol*. 2 de marzo de 2019;292:39-47.
14. Forbes JN, Frederick SW, Savage MY, Cross AR. *Brucella canis* sacroiliitis and discospondylitis in a dog. *Can Vet J*. diciembre de 2019;60(12):1301-4.
15. Darbaz I, Ergene O. *Brucella canis* and Public Health Risk. *Cyprus J Med Sci*. 29 de abril de 2019;4:52-6.
16. de Souza TD, de Carvalho TF, Mol JP da S, Lopes JVM, Silva MF, da Paixão TA, et al. Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine fetuses and neonates. *Sci Rep*. 8 de mayo de 2018;8(1):7203.
17. Miceli GS, Meyer LP, Peralta LM, Mortola E. Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en perros en contacto con zona rural: Aspectos zoonóticos de la infección. *Analecta Vet*. 3 de diciembre de 2019;39(2):038-038.
18. Prochazka MA, Bonzo E, Miceli G. Relevamiento serológico de brucelosis en caninos que acudieron a consulta en la ciudad de Bahía Blanca. *Rev med.vet*. 2017;98(3):05-8.
19. Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures | *Veterinaria Italiana*. 16 de febrero de 2022 [citado 15 de noviembre de 2023];58(1). Disponible en: <https://veterinariaitaliana.izs.it/index.php/VetIt/article/view/2561>
20. Barker E. *Brucella canis*. *BSAVA Sci Comm [Internet]*. 2023; Disponible en: https://www.bsavalibrary.com/content/chapter/10.22233/9781910443514.chap9#html_fulltext
21. Castrillón-Salazar L, Giraldo-Echeverri CA, Sánchez-Jiménez MM, Olivera-Angel M. Factores asociados con la seropositividad a *Brucella canis* en criaderos caninos de dos regiones de Antioquia, Colombia. *Cad Saúde Pública*. octubre de 2013;29:1975-87.
22. Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *Can Vet J*. enero de 2018;59(1):74-81.

23. Santos RL, Souza TD, Mol JPS, Eckstein C, Paixão TA. Canine Brucellosis: An Update. *Front Vet Sci* [Internet]. 2021 [citado 15 de noviembre de 2023];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.594291>
24. Hamdy MER, Abdel-Haleem MH, Dawod RE, Ismail RI, Hazem SS, Fahmy HA, et al. First seroprevalence and molecular identification report of *Brucella canis* among dogs in Greater Cairo region and Damietta Governorate of Egypt. *Vet World*. enero de 2023;16(1):229-38.
25. Sánchez-Jiménez MM, De La Cuesta Zuluaga JJ, Garcia-Montoya GM, Dabral N, Alzate JF, Vemulapalli R, et al. Diagnosis of human and canine *Brucella canis* infection: development and evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant *Brucella* proteins. *Heliyon*. julio de 2020;6(7):e04393.
26. Masis F, Averaimo F, Garofolo G, Lecchini P, Ruocco L, Lomolino R, et al. First Isolation of *Brucella canis* from a breeding kennel in Italy. | *Veterinaria Italiana*. *Vet Ital* [Internet]. 9 de febrero de 2021 [citado 15 de noviembre de 2023];57(3). Disponible en: <https://veterinariaitaliana.izs.it/index.php/VetIt/article/view/2497>
27. Departamento de Zoonosis Urbanas Buenos Aires. *NORMATIVA DE NOTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES DE DENUNCIA OBLIGATORIA EN VETERINARIA (En pequeños animales)* [Internet]. Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires; 2020. Disponible en: <https://www.minegocioveterinario.com/wp-content/uploads/2020/05/ENO-05-2020-1.pdf>
28. 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*. 1 de noviembre de 2020;184:105157.
29. Goksel E, Parin U, Dolgun HTY, Kirkan S, Turkyilmaz S, Savasan S. Investigation of The Presence of *Brucella canis* in Dogs in Western Part of Turkey. *Indian J Anim Res*. 1 de octubre de 2020;56(5):619-23.
30. Buhmann G, Paul F, Herbst W, Melzer F, Wolf G, Hartmann K, et al. Canine Brucellosis: Insights Into the Epidemiologic Situation in Europe. *Sec Vet Neurol Neurosurg* [Internet]. 2019 [citado 15 de noviembre de 2023];6. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2019.00151>
31. 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*. 1 de diciembre de 2007;83(3):340-6.

32. Tuemmers C, Lüders C, Rojas C, Serri M, Castillo C, Espinoza R. Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. *Rev Chil Infectol*. agosto de 2013;30(4):395-401.
33. Luciani M, Krasteva I, Di Febo T, Perletta F, D’Onofrino F, D’Alterio F. Proteomics and bioinformatics investigations to improve serological diagnosis of canine brucellosis - Luciani - PROTEOMICS – Clinical Applications - Wiley Online Library. *Wiley Libr Proteomics Clin Appl* [Internet]. 2023 [citado 15 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/prca.202200116>
34. Helms AB, Balogh O, Franklin-Guild R, Lahmers K, Caswell CC, Cecere JT. Presumptive Identification of Smooth *Brucella* Strain Antibodies in Canines. *Front Vet Sci* [Internet]. 2021 [citado 15 de noviembre de 2023];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.697479>
35. Sharma V, Sharma R, Aulakh RS, Singh BB. Prevalence of *Brucella* species in stray cattle, dogs and cats: A systematic review. *Prev Vet Med*. 1 de octubre de 2023;219:106017.
36. Zakaria AM. Comparative Assessment of Sensitivity and Specificity of Rose Bengal Test and Modified In-House ELISA by using IS711 Taqman Real Time PCR Assay as a Gold Standard for the Diagnosis of Bovine Brucellosis. *Biomed Pharmacol J*. 25 de junio de 2018;11(2):951-7.
37. Guarino C, Franklin-Guild R, Goodrich E, Conklin R, Frye E, Pinn-Woodcock T. Antibody response over time correlated with treatment outcome in 30 dogs naturally infected with *Brucella canis* (2017–2022). *Am J Vet Res* [Internet]. 1 de abril de 2023 [citado 15 de noviembre de 2023];84(4). Disponible en: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/ajvr/84/4/ajvr.23.01.0014.xml>
38. Laverde AJ, Restrepo-Botero D, Hernández-Pulido D, Rodríguez-Bautista JL, Sandoval IS. Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros de un refugio para animales de compañía en Bogotá, Colombia. *Biomédica*. 29 de junio de 2021;41(2):260-70.
39. Djokic V, Freddi L, de Massis F, Lahti E, van den Esker MH, Whatmore A, et al. The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know and what we need to learn. *Emerg Microbes Infect*. 8 de diciembre de 2023;12(2):2249126.
40. Eckstein C, Mol JPS, Costa FB, Nunes PP, Lima PA, Melo MM, et al. *Brucella ovis* mutant in ABC transporter protects against *Brucella canis* infection in mice and it is safe for dogs. *PLOS ONE*. 16 de abril de 2020;15(4):e0231893.

41. Porter I, Neal T, Walker Z, Hayes D, Fowler K, Billups N, et al. Crystal structures of FolM alternative dihydrofolate reductase 1 from *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Commun.* 1 de enero de 2022;78(1):31-8.
42. Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018). *Cellular and Molecular Immunology*.
43. Murphy, K., Weaver, C. (2016). *Janeway's Immunobiology*.
44. Harlow, E., & Lane, D. (1988). *Antibodies: A Laboratory Manual*.
45. Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R., & Roitt, I. M. (2017). *Roitt's Essential Immunology*.
46. Tijssen, P. (1985). *Practice and theory of enzyme immunoassays*. Elsevier Science Publishers.
47. Rubinstein, E., & Levin, A. (2005). The enzyme-multiplied immunoassay technique (EMIT): Overview and application. *Therapeutic Drug Monitoring*, 27(6), 732-741.
48. Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871-874.
49. Harlow, J., & Lane, D. (1999). *Using antibodies: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
50. Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871-874.
51. Greenfield, E. A. (2014). *Antibodies: A laboratory manual (2nd ed.)*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
52. Kuby, J., Kindt, T. J., Goldsby, R. A., Osborne, B. A., & Kuby, J. (2007). *Kuby immunology (6th ed.)*. Macmillan Higher Education.
53. Nielsen, K., & Yu, W. L. (2010). Serological diagnosis of brucellosis. **Practical Laboratory Medicine**, 1, 20-30. doi:10.1016/j.plabm.2014.10.002
54. Páez Calvopiña, Kléber Paúl (2021), Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador. UTC. Latacunga. 144 p.
55. Galarza Alvarado, T. P. (2022-02-18). Seroprevalencia de brucelosis canina en refugios del cantón Cuenca y sus factores predisponentes (Master's thesis). Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38134>
56. Román Salguero, Alejandra Belén y Toctaguano Iza, Daniel Sebastián (2018). Modelamiento del riesgo epidemiológico por *Brucella* SP. Mediante el modelo automática

celular en la zona urbana central de Sangolquí. Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Matriz Sangolquí.

57. Velasco López Patricia Fernanda (2018); Prevalencia de Brucella Canis y Factores Asociados en Caninos Domésticos (canis familiaris) en el Barrio el Progreso de la Parroquia San Juan de Pastocalle. UTC. Latacunga. 90 p.

58. Chicaiza Pimboza Jorge Luis (2019); Prevalencia de Brucella Canis y Factores asociados a Caninos Domésticos (canis familiaris) en el Barrio San Pedro de Teneria de la Parroquia Pastocalle. UTC. Latacunga. 141 p.

59. Ballut JC, Calderón A, Rodríguez V. Brucelosis en hembras caninas en Montería (Colombia): un problema para la salud pública. Biosalud. 2013;12(2):66-74. Disponible <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a06.pdf>

60. Parker HG. 2012. Genomic analyses of modern dog breeds. Mamm Genome. PMID 22231497. Doi:10.1007/s00335-011-9387-6.

61. Ortega Abel, Paredes José, Guillén Alfredo. Prevalencia de anticuerpos contra Brucella sp. En donantes del banco de sangre de un hospital de Lima. Rev. perú. med. exp. salud publica [Internet]. 2007 Oct [citado 2025 Ene 11] ; 24(4): 431-434. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342007000400013&lng=es.

ANEXOS

Los anexos del 1 al 2 muestran fotografías de las campañas efectuadas para la recolección de muestras necesarias para técnicas de Elisa y Rosa de bengala, muestras tomadas en dos clínicas veterinarias de la ciudad de Arenillas provincia de El Oro, Ecuador.

Anexo 1: Primera campaña de desparasitación y toma de muestras sanguíneas para análisis de Elisa y Rosa de Bengala para brucelosis en la clínica veterinaria “Candi”.





Anexo 2: Segunda campaña de desparasitación y toma de muestras sanguíneas para análisis de Elisa y Rosa de Bengala para brucelosis en la clínica veterinaria “Castillo”.



Los anexos del 3 al 9 muestran fotografías de los materiales, equipos y procedimiento efectuados durante el corrido de la prueba Elisa.

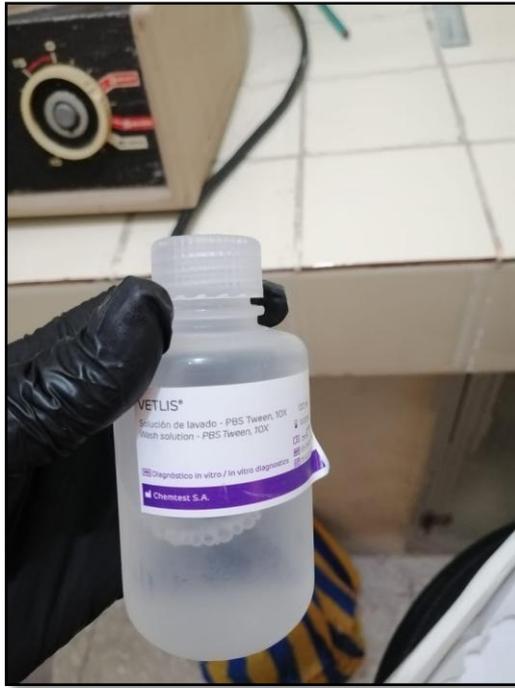
Anexo 3: Kit para prueba Elisa.



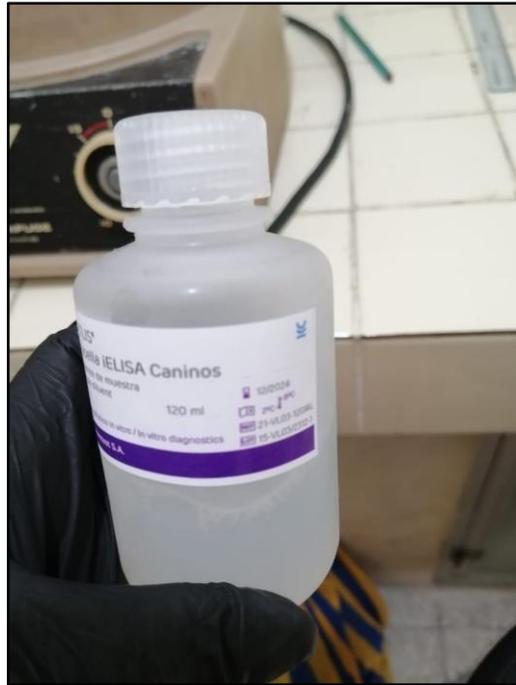
Anexo 4: Reactivos del kit para pruebas de Elisa.



Anexo 5: Kit de Elisa “Solución de lavado Elisa”.



Anexo 6: Kit Elisa diluyente de muestra.



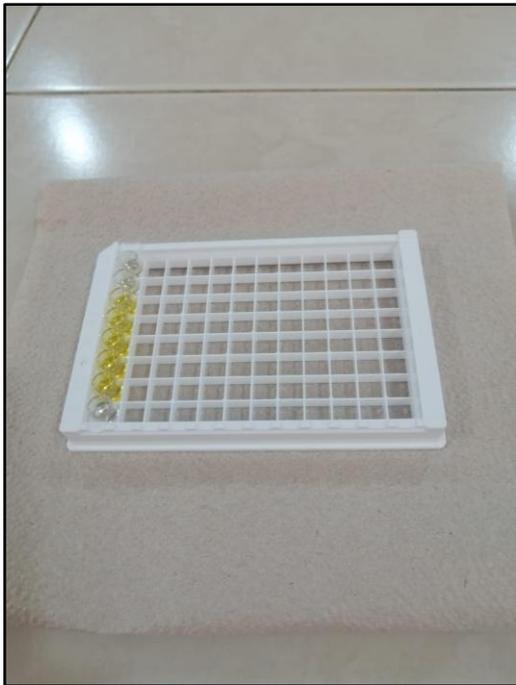
Anexo 7: Procesado de muestra de suero sanguíneo como micropipeta para prueba Elisa.



Anexo 8: Colocación de diluyente de muestra en los pocillos.



Anexo 9: Ingreso de rejilla a la máquina para determinar Brucelosis.





Los anexos del 10 al - muestran fotografías de los materiales, equipos y procedimiento efectuados durante el corrido de la prueba Elisa.

Anexo 10: Colocación de sangre sobre placa de vidrio.



Anexo 11: Aplicación de reactivo Rosa de Bengala sobre las muestras de sangre.



Anexo 12: observación de reacción ante la posible presencia de brúcela sobre las muestras sanguíneas.



Anexo 13: Tabla de recolección de datos utilizada.

Columna1	Columna1	Columna	Columna	Columna32	Columna	Columna5	Columna6
	Nombre de la mascota	Edad	Sexo	Raza	Peso (Kg)	Nombre del propietario	Numero de telefono
1	Rumina	4 años	hembra	chihuahua	2.5	Diana Torres	0959069079
2	Doki	2 años	macho	mestiza	7.85	Diana Torres	0959069079
3	Juaquinina	03 meses	hembra	mestiza	7.7	Luis Reyes	0985716122
4	Beethoven	03 meses	macho	mestiza	7.25	Luis Reyes	0985716122
5	Chulo	2 años	macho	mestiza	18.8	Jennifer Vicente	0997933809
6	Max	03 meses	hembra	mestiza	4.8	Jennifer Vicente	0997933809
7	Luna	02 meses	hembra	mestiza	4.1	Jennifer Vicente	0997933809
8	Cloe	1 año	hembra	shih Tzu	3.25	Norma Jaramillo	0967623598
9	Cachito	6 años	macho	mestiza	13.75	Norma Jaramillo	0967623598
10	Suca	2 años	hembra	mestiza	10,170	Norma Jaramillo	0967623598
11	Kira	08 meses	hembra	mestiza	9	Zuleyka Valarezo	0992270523
12	Gorda	1 año	hembra	golden	6.6	Zuleyka Valarezo	0992270523
13	Muñeca	3 años	hembra	mestiza	17.5	Juan Ochoa	0985256862
14	Lulu	1 año	hembra	mestiza	7.35	Natali Andino	0999379915
15	Benji	6 años	macho	mestiza	11.25	Natali Andino	0999379915
16	Nacha	3 años	hembra	mestiza	21k	Byron Avila	0994648176
17	Forastera	3 años	hembra	mestiza	15.6	Byron Avila	0994648176
18	Rex	4 años	macho	mestiza	20.2	Byron Avila	0994648176
19	Mimi	6 años	hembra	mestiza	18.3	Byron Avila	0994648176
20	Luna	4 años	hembra	mestiza	22.8	Byron Avila	0994648176
21	Fer	2 años	hembra	mestiza	5.1	Marcos Cueva	0987524888
22	Lucy	2 años	hembra	pekinès	3.95	Lisbet Valarezo	0987831330
23	Zeus	2 años	macho	golden	35.7	Zuleyka Valarezo	0992270523
24	Alaska	1 año	hembra	mestiza	9	Jonny Carranza	0939026278
25	Bonnie	2 años	macho	pekinès	5.85	Nathaly Lopez	0989902937
26	Willito	04 meses	macho	mestiza	11.7	Maria Garcia	0980737629
27	Ulises	8 años	macho	mestiza	22	Irlanda Sonoranga	0992871895
28	Hachi	1 año	macho	mestiza	14	Maria Carmelina	0930819994
29	Linda	2 años	hembra	mestiza	19	Mabel Savedra	0999430802
30	Loba	3 años	hembra	mestiza	19.3	Ruben Zavedra	0985632214
31	Hade	3años	hembra	mestiza	5.85	Carmen Montoya	0991129019
32	Sofia	2 años	hembra	shih Tzu	3.65	Carmen Montoya	0991129019
33	Mimi	3 años	hembra	shih Tzu	6.25	Carmen Montoya	0991129019
34	China	1 año	hembra	Husky	19	Amada Mora	0990839449
35	Jack	4 años	macho	chihuahua	6.15	Freddy Ramirez	0989565144
36	Coffe	3 años	macho	mestiza	7.45	Rosa Macas	0956231588
37	Manchitas	2 años	macho	Husky	20	Luisa Valarezo	0991510690
38	Misi	1 año	hembra	mestiza	7.1	Kerly Castro	0993802363
39	Oso	2 años	macho	chihuahua	5.4	Freddy Ramirez	0989565144
40	Moly	4 años	hembra	chihuahua	4.55	Freddy Ramirez	0989565144
41	Tobby	10 años	macho	mestiza	11	Vicente Valarezo	0959912920
42	Mia	06 meses	hembra	mestiza	15	Jennifer Romero	0991342472
43	Cocky	05 meses	macho	shih Tzu	4	Jaime Duchi	0994218478
44	Sasi	3 años	hembra	mestiza	11	Veronica	0994218478
45	Lucas	4 años	macho	mestiza	6	Joel Mora	0981758280

46	Kira	4 años	hembra	chihuahua	4.25	Freddy Ramirez	0989565144
47	Cloe	3 años	hembra	mestiza	5	Joel Mora	0981758280
48	Negra	10 meses	hembra	mestiza	4.8	Diana Gonzalez	0979811350
49	Tigre	04 meses	macho	mestiza	3.15	Maria del carmen Lopez	0986330102
50	Tormenta	2 años	hembra	chihuahua	2.6	Ahirton Pardo	0984748050
51	Cani	1 año	hembra	mestiza	6.85	Britanny Salazar	0985682144
52	Lazy	04 meses	hembra	mestiza	2.55	Maria del carmen Lopez	0986330102
53	Lluvia	1 año	hembra	chihuahua	4.5	Hilda Ruiz	0984748050
54	Jonas	1 año	macho	mestiza	9	Rocio Olivares	0989808055
55	Samir	07 meses	macho	mestiza	15.6	Daniela Jaramillo	0991896697
56	Negra	05 meses	hembra	mestiza	9.4	Daniela Jaramillo	0991896697
57	Shago	1 año	macho	mestiza	23.8	Irania Mora	0991896697
58	Kira	06 meses	hembra	mestiza	20	Evelyn Cruz	0985642235
59	Suca	9 años	hembra	golden	19.6	Margarita Intriago	0987219872
60	Toreto	3 años	macho	bulldog	20	Michael Fuentes	0996380600
61	Akira	3 años	hembra	mestiza	5	jazmin Sisalima	098093531
62	Gudi	2 años	macho	Husky	6.7	Anabel Alarcon	0988081188
63	Max	3 años	macho	mestiza	26.3	Andrea	0988498600
64	Polar	1 año	macho	Husky	20	Julissa Vincos	0991896697
65	Jacobo	6 años	macho	mestiza	14	Dania Oviedo	0988498600
66	Rocky	2 años	macho	shih Tzu	2.9	Maria Fernanda	0983698828
67	Oso	1 año	macho	mestiza	1.6	Edgar Sanchez	0995617246
68	Hanna	5 años	hembra	mestiza	35	Edgar Sanchez	0995617246
69	Sasha	1 año	hembra	mestiza	21.8	Maximo Capela	0978895221
70	Archie	04 meses	macho	mestiza	9	Astrid Cerna	0969620366
71	Arenita	02 meses	hembra	mestiza	6.3	Samantha Cañar	0939719345
72	Saya	3 años	hembra	mestiza	19.3	Luzmila Flores	0981376349
73	Patron	8 años	macho	mestiza	20	Marlin Capela	0981075007
74	Lolita	2 años	hembra	mestiza	5	Maritza Pineda	0984027623
75	Luna	04 meses	hembra	shih Tzu	4	Valeria	0994143108
76	Chester	08 meses	macho	Husky	20	Miguel Castillo	0992350034
77	Osito	9 años	macho	mestiza	6	Miguel Castillo	0992350034
78	Aisha	8 años	hembra	San Bernardo40k	7	Allison Aguilar	0968279419
79	Kiara	5 años	hembra	Basset hound30K	11	Damir Aguilar	0969330228
80	Tomy	4 años	macho	Jack Russel	10	Sebastian Campoverde	0959174960
81	Mike	3 años	macho	Pequines	15	Allison Aguilar	0968279419
82	Lola	6 años	hembra	Basset hound30K	35	Suanny Veloz	0981030624
83	Wily	2 años	macho	mestizo	10	Adrian Flores	0999512063
84	Negro	3,5 años	macho	mestizo	20	Camila Sanchez	0983506052
85	Pirata	1 año	hembra	Pit Bull	42	Mateo Navarro	0928016421
86	Carabina	8 meses	hembra	mestiza	11	Alejandro Silva	0994470334
87	Lulu	2 años	hembra	Labrador	54	Ximena Delgado	0991766954
88	Tini	4 años	hembra	mestiza	16	Martin Castillo	0990911379
89	Carabina	5 años	hembra	mestiza	15	Juan Pablo Rivas	0988101604
90	Pancho	10 meses	macho	mestizo	9	Marisol Vargas	0993182263
91	Novita	1,5 años	macho	mestizo	5	Alejandro Ramires	0999547987
92	Nefertaris	1 año	hembra	Daschshund	6.5	Flor Castiillo	0982540609
93	Karlota	3 años	hembra	mestiza	18	Noelia Herrera	0958898556
94	Junior	6 años	macho	Past. Aleman	52	Milagros Olaya	0982799855
95	Pintado	2 años	macho	mestizo	9	Efren Mora	0954713594
96	Mateo	7 meses	macho	mestizo	7	Santiago Macas	0955961455
97	Princesa	1 año	hembra	frens Poodle	8.5	Jeronimo Oyola	0987788543
98	Mary	7 años	hembra	mestiza	42	Fredy Ramires	09441597634
99	Rumorosa	5 años	hembra	mestiza	11.3	Ivon Martinez	0944785169
100	Donatella	4 años	hembra	mestiza	25	Jose Luis Cueva	0947886632

Anexo 14: Desde el anexo 4 hasta el anexo 10 corresponde a las “Tablas de corridas Elisa”

CORRIDA	1	FECHA:	3/29/2024
POCILLOS	8	MUESTRA	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.171	
B	CP	1.21	
C	64	0.46	
D	26	0.326	
E	49	0.274	
F	37	1.465	
G	30	0.352	
H	50	0.323	

Anexo 15

CORRIDA	2	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.205	
B	CP	1.17	
C	72	0.28	
D	69	0.266	
E	73	0.316	
F	65	0.308	
G	42	0.267	
H	34	0.364	

Anexo 16

CORRIDA	3	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.119	
B	CP	0.883	
C	28	0.193	
D	53	0.181	
E	99	0.223	
F	66	0.318	
G	74	0.202	
H	75	0.381	

Anexo 17

CORRIDA	4	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.15	
B	CP	0.935	
C	59	0.211	
D	60	0.487	
E	33	0.279	
F	78	0.322	
G	3	0.267	
H	40	0.326	

Anexo 18

CORRIDA	5	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.157	
B	CP	1.325	
C	79	0.178	
D	80	0.239	
E	81	0.326	
F	45	0.443	
G	82	0.283	
H	17	0.339	

Anexo 19

CORRIDA	6	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.161	
B	CP	0.7	
C	54	0.246	
D	44	0.269	
E	20	0.28	
F	24	0.289	
G	36	0.207	
H	61	0.27	

Anexo 20

CORRIDA	7	FECHA:	3/1/2024
POCILLOS	8	MUESTRAS:	6
1			
LETRA P	MUESTRA	D.O	
A	CN	0.114	
B	CP	0.803	
C	57	0.22	
D	15	0.206	
E	58	0.307	
F	46	0.252	
G	67	0.2	
H	1	0.309	

Anexo 21: Plantilla Brucella



Fecha: 4/24/2024 **Analista:** _____
Lote: _____ **T (°C) / HR (%):** _____
Test: VETLIS® Brucella iELISA Caninos **Versión:** 15VL04_v22092022

Esquema de Siembra (91 muestras)

CN	M4	M12	M20	M28	M36	M44	M52	M60	M68	M76	M84
CN	M5	M13	M21	M29	M37	M45	M53	M61	M69	M77	M85
CP	M6	M14	M22	M30	M38	M46	M54	M62	M70	M78	M86
CP	M7	M15	M23	M31	M39	M47	M55	M63	M71	M79	M87
BM	M8	M16	M24	M32	M40	M48	M56	M64	M72	M80	M88
M1	M9	M17	M25	M33	M41	M49	M57	M65	M73	M81	M89
M2	M10	M18	M26	M34	M42	M50	M58	M66	M74	M82	M90
M3	M11	M19	M27	M35	M43	M51	M59	M67	M75	M83	M91

Pegar aquí los datos de Abs450nm

0.17	0.82	0.23	0.81	0.27	0.22	0.27	0.21	0.28	0.32	0.29	0.26
0.17	0.22	0.21	0.29	0.28	0.27	0.32	0.49	0.27	0.18	0.42	0.21
1.20	0.25	0.26	0.33	0.36	0.31	0.57	0.27	0.28	0.24	0.53	0.24
1.20	0.18	0.34	0.30	0.21	0.28	0.49	0.26	0.32	0.33	0.60	0.27
	0.54	0.31	0.19	1.47	0.44	0.18	0.46	0.20	0.28	0.52	0.25
0.31	0.35	0.19	0.24	0.21	0.25	0.28	0.31	0.38	0.22	0.61	0.22
0.31	0.33	0.28	0.35	0.21	0.22	0.22	0.38	0.25	0.64	0.19	0.27
0.27	0.27	0.35	0.24	0.33	0.85	0.31	0.20	0.28	0.27	0.23	

Criterios de Validez	
CP > 1.0	OK
CN < 0.15	NO OK
BM < 0.10	#DIV/0!
CP/CN > 6	OK
Variación CP < 20%	OK

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

CP	1.20
-----------	-------------

Posición	Protocolo	N° Tubo	Abs450	%PR	Interpretación
M1		1	0.31	25.8	NEGATIVO
M2		2	0.31	25.5	NEGATIVO
M3		3	0.27	22.3	NEGATIVO
M4		4	0.82	68.7	POSITIVO
M5		5	0.22	18.3	NEGATIVO
M6		7	0.25	21.2	NEGATIVO
M7		8	0.18	15.0	NEGATIVO
M8		9	0.54	45.1	INDETERMINADO
M9		11	0.35	29.3	NEGATIVO
M10		12	0.33	27.1	NEGATIVO
M11		13	0.27	22.3	NEGATIVO
M12		14	0.23	19.4	NEGATIVO
M13		15	0.21	17.2	NEGATIVO
M14		16	0.26	21.8	NEGATIVO
M15		17	0.34	28.3	NEGATIVO
M16		18	0.31	25.5	NEGATIVO
M17		19	0.19	15.8	NEGATIVO
M18		20	0.28	23.3	NEGATIVO
M19		21	0.35	28.9	NEGATIVO
M20		23	0.81	67.3	POSITIVO
M21		24	0.29	24.1	NEGATIVO
M22		26	0.33	27.2	NEGATIVO
M23		27	0.30	25.1	NEGATIVO
M24		28	0.19	16.1	NEGATIVO
M25		29	0.24	20.3	NEGATIVO

M26		30	0.35	29.3	NEGATIVO
M27		31	0.24	19.9	NEGATIVO
M28		32	0.27	22.8	NEGATIVO
M29		33	0.28	23.3	NEGATIVO
M30		34	0.36	30.3	NEGATIVO
M31		36	0.21	17.3	NEGATIVO
M32		37	1.47	122.1	POSITIVO
M33		38	0.21	17.2	NEGATIVO
M34		39	0.21	17.8	NEGATIVO
M35		40	0.33	27.2	NEGATIVO
M36		41	0.22	18.1	NEGATIVO
M37		42	0.27	22.3	NEGATIVO
M38		43	0.31	25.5	NEGATIVO
M39		44	0.28	23.3	NEGATIVO
M40		45	0.44	36.9	INDETERMINADO
M41		46	0.25	21.0	NEGATIVO
M42		47	0.22	17.9	NEGATIVO
M43		48	0.85	70.6	POSITIVO
M44		49	0.27	22.8	NEGATIVO
M45		50	0.32	26.9	NEGATIVO
M46		51	0.57	47.5	INDETERMINADO
M47		52	0.49	40.6	INDETERMINADO
M48		53	0.18	15.1	NEGATIVO
M49		54	0.28	23.0	NEGATIVO
M50		57	0.22	18.3	NEGATIVO

M51		58	0.31	25.6	NEGATIVO
M52		59	0.21	17.6	NEGATIVO
M53		60	0.49	40.6	INDETERMINADO
M54		61	0.27	22.5	NEGATIVO
M55		63	0.26	21.8	NEGATIVO
M56		64	0.46	38.3	INDETERMINADO
M57		65	0.31	25.7	NEGATIVO
M58		66	0.38	31.8	NEGATIVO
M59		67	0.20	16.7	NEGATIVO
M60		68	0.28	23.6	NEGATIVO
M61		69	0.27	22.2	NEGATIVO
M62		72	0.28	23.3	NEGATIVO
M63		73	0.32	26.3	NEGATIVO
M64		74	0.20	16.8	NEGATIVO
M65		75	0.38	31.8	NEGATIVO
M66		76	0.25	21.2	NEGATIVO
M67		77	0.28	23.3	NEGATIVO
M68		78	0.32	26.8	NEGATIVO
M69		79	0.18	14.8	NEGATIVO
M70		80	0.24	19.9	NEGATIVO
M71		81	0.33	27.2	NEGATIVO
M72		82	0.28	23.6	NEGATIVO
M73		83	0.22	17.9	NEGATIVO
M74		84	0.64	53.3	POSITIVO
M75		85	0.27	22.8	NEGATIVO
M76		86	0.29	24.5	NEGATIVO
M77		87	0.42	35.3	INDETERMINADO
M78		88	0.53	44.0	INDETERMINADO
M79		89	0.60	50.1	INDETERMINADO
M80		90	0.52	43.3	INDETERMINADO
M81		91	0.61	51.1	POSITIVO
M82		92	0.19	15.7	NEGATIVO
M83		93	0.23	19.4	NEGATIVO
M84		94	0.26	21.6	NEGATIVO
M85		95	0.21	17.5	NEGATIVO
M86		96	0.24	20.1	NEGATIVO
M87		97	0.27	22.3	NEGATIVO
M88		98	0.25	20.5	NEGATIVO
M89		99	0.22	18.6	NEGATIVO
M90		100	0.27	22.8	NEGATIVO
M91			0.00	0.0	S/D

*S/D, Sin Datos

Anexo 22: Tabla de resultados Elisa/Rosa de Bengala.

Muestra	DO	ABS	Interpretación/ Elisa	HCTO	ST	ROSA DE BENGALA
1	0.309	25.8	NEGATIVO	28	60	NEGATIVO
2	0.306	25.5	NEGATIVO	46	100	NEGATIVO
3	0.267	22.3	NEGATIVO	44	69	NEGATIVO
4	0.824	68.7	POSITIVO	50	76	NEGATIVO
5	0.22	18.3	NEGATIVO	51	90	NEGATIVO
7	0.254	21.2	NEGATIVO	56	120	NEGATIVO
8	0.18	15.0	NEGATIVO	56	96	NEGATIVO
9	0.541	45.1	INDETERMINADO	46	82	NEGATIVO
11	0.352	29.3	NEGATIVO	53	92	NEGATIVO
12	0.325	27.1	NEGATIVO	35	86	NEGATIVO
13	0.268	22.3	NEGATIVO	47	120	NEGATIVO
14	0.233	19.4	NEGATIVO	38	100	NEGATIVO
15	0.206	17.2	NEGATIVO	54	76	NEGATIVO
16	0.261	21.8	NEGATIVO	55	86	NEGATIVO
17	0.339	28.3	NEGATIVO	60	128	NEGATIVO
18	0.306	25.5	NEGATIVO	49	75	NEGATIVO
19	0.19	15.8	NEGATIVO	29	102	NEGATIVO
20	0.28	23.3	NEGATIVO	46	72	NEGATIVO
21	0.347	28.9	NEGATIVO	39	68	NEGATIVO
23	0.808	67.3	POSITIVO	59	92	NEGATIVO
24	0.289	24.1	NEGATIVO	63	112	NEGATIVO
26	0.326	27.2	NEGATIVO	54	110	NEGATIVO
27	0.301	25.1	NEGATIVO	38	92	NEGATIVO
28	0.193	16.1	NEGATIVO	57	82	NEGATIVO
29	0.243	20.3	NEGATIVO	49	60	NEGATIVO
30	0.352	29.3	NEGATIVO	55	108	NEGATIVO
31	0.239	19.9	NEGATIVO	50	80	NEGATIVO
32	0.273	22.8	NEGATIVO	40	62	NEGATIVO
33	0.279	23.3	NEGATIVO	54	110	NEGATIVO

34	0.364	30.3	NEGATIVO	29	110	NEGATIVO
36	0.207	17.3	NEGATIVO	56	100	NEGATIVO
37	1.465	122.1	POSITIVO	59	92	NEGATIVO
38	0.206	17.2	NEGATIVO	40	76	NEGATIVO
39	0.213	17.8	NEGATIVO	35	100	NEGATIVO
40	0.326	27.2	NEGATIVO	50	66	NEGATIVO
41	0.217	18.1	NEGATIVO	47	70	NEGATIVO
42	0.267	22.3	NEGATIVO	64	90	NEGATIVO
43	0.306	25.5	NEGATIVO	58	83	NEGATIVO
44	0.269	23.3	NEGATIVO	47	80	NEGATIVO
45	0.443	36.9	INDETERMINADO	53	86	NEGATIVO
46	0.252	21.0	NEGATIVO	22	84	NEGATIVO
47	0.215	17.9	NEGATIVO	48	90	NEGATIVO
48	0.847	70.6	POSITIVO	49	72	NEGATIVO
49	0.274	22.8	NEGATIVO	42	92	NEGATIVO
50	0.323	26.9	NEGATIVO	33	98	NEGATIVO
51	0.57	47.5	INDETERMINADO	42	82	NEGATIVO
52	0.487	40.6	INDETERMINADO	38	94	NEGATIVO
53	0.181	15.1	NEGATIVO	53	106	NEGATIVO
54	0.276	23.0	NEGATIVO	47	80	NEGATIVO
57	0.22	18.3	NEGATIVO	36	74	NEGATIVO
58	0.307	25.6	NEGATIVO	51	80	NEGATIVO
59	0.211	17.6	NEGATIVO	47	76	NEGATIVO
60	0.487	40.6	INDETERMINADO	56	86	NEGATIVO
61	0.27	22.5	NEGATIVO	36	110	NEGATIVO
63	0.262	21.8	NEGATIVO	57	64	NEGATIVO
64	0.46	38.3	INDETERMINADO	50	90	NEGATIVO
65	0.308	25.7	NEGATIVO	44	74	NEGATIVO
66	0.381	31.8	NEGATIVO	37	68	NEGATIVO

67	0.2	16.7	NEGATIVO	38	80	NEGATIVO
68	0.283	23.6	NEGATIVO	47	66	NEGATIVO
69	0.266	22.2	NEGATIVO	52	86	NEGATIVO
72	0.28	23.3	NEGATIVO	47	76	NEGATIVO
73	0.316	26.3	NEGATIVO	56	86	NEGATIVO
74	0.202	16.8	NEGATIVO	36	110	NEGATIVO
75	0.381	31.8	NEGATIVO	47	80	NEGATIVO
76	0.254	21.2	NEGATIVO	53	86	NEGATIVO
77	0.279	23.3	NEGATIVO	47	80	NEGATIVO
78	0.322	26.8	NEGATIVO	53	86	NEGATIVO
79	0.178	14.8	NEGATIVO	48	90	NEGATIVO
80	0.239	19.9	NEGATIVO	49	72	NEGATIVO
81	0.326	27.2	NEGATIVO	42	92	NEGATIVO
82	0.283	23.6	NEGATIVO	62	78	NEGATIVO
83	0.215	17.9	NEGATIVO	49	88	NEGATIVO
84	0.639	53.3	POSITIVO	40	99	NEGATIVO
85	0.273	22.8	NEGATIVO	58	83	NEGATIVO
86	0.294	24.5	NEGATIVO	43	60	NEGATIVO
87	0.424	35.3	INDETERMINADO	59	100	NEGATIVO
88	0.528	44.0	INDETERMINADO	22	84	NEGATIVO
89	0.601	50.1	INDETERMINADO	52	70	NEGATIVO
90	0.52	43.3	INDETERMINADO	60	80	NEGATIVO
91	0.613	51.1	POSITIVO	43	60	NEGATIVO
92	0.188	15.7	NEGATIVO	37.5	58	NEGATIVO
93	0.233	19.4	NEGATIVO	44	74	NEGATIVO
94	0.259	21.6	NEGATIVO	35	54	NEGATIVO
95	0.21	17.5	NEGATIVO	56	120	NEGATIVO
96	0.241	20.1	NEGATIVO	48	74	NEGATIVO
97	0.267	22.3	NEGATIVO	48	90	NEGATIVO
98	0.246	20.5	NEGATIVO	49	72	NEGATIVO
99	0.223	18.6	NEGATIVO	42	92	NEGATIVO
100	0.274	22.8	NEGATIVO	33	98	NEGATIVO