

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

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

TRABAJO EXPERIMENTAL:

“PREVALENCIA DE *BRUCELLA ABORTUS* EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*), EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN MASIVA, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”

AUTOR:

JONNATHAN XAVIER PLAZA ROMERO

TUTOR:

ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA

CUENCA - ECUADOR

2022

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Jonnathan Xavier Plaza Romero con documento de identificación N° 0106607096, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*), EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN MASIVA, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médico Veterinario Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribió este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, febrero de 2022.



Jonnathan Xavier Plaza Romero

C.I. 0106607096

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*), EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN MASIVA, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”**, realizado por Jonnathan Xavier Plaza Romero obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, febrero de 2022.



Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda

C.I. 0603329681

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Jonnathan Xavier Plaza Romero con documento de identificación N° 0106607096, autor del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*), EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN MASIVA, MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, febrero de 2022.



Jonnathan Xavier Plaza Romero

C.I. 0106607096

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi madre María Guadalupe Romero, quien con su ejemplo de fortaleza he podido seguir siempre adelante, que viendo su ejemplo de a pesar de tener que trabajar todo un día y del cansancio que se puede sentir y el dolor, la vida sigue y los sueños también, ver su ejemplo de que con trabajo se puede obtener lo que uno quiere, ella que me dejo estudiar lo que quería sin imposiciones de nada, ella por dejarme seguir con mis locuras de ayudar a los animales a pesar de todos los dolores de cabeza que le he causado. A mi abuelita, que gracias a su dulzura y carácter fuerte, me enseñó a tener convicciones y recordar que la humildad es lo mejor. A todos los amigos animales, que sin ellos no hubiese podido tener esa motivación diaria de quererlos ayudar y siempre tratar de ser un mejor ser humano para ellos y para la humanidad misma. A mis hermanos que cada día fueron un pilar más, que rescatar a cada animal necesitado era bueno y que sin apoyo de ellos no hubiese podido mantenerlos. A mis amigos y amigas de dentro y fuera de la universidad, que me animaban a cada instante, que con sus palabras siempre tenía su apoyo, y que gracias a su lealtad sabía que contaba con ellos en todo momento.

Al señor Iván Clemente, gracias a él por enseñarme tantas cosas, por apoyarme, por aparecer en mi camino, por su paciencia.

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a la vida por haberme dado la madre que tengo; a mi mami, quien ha sabido darme la mano desde el inicio de la carrera hasta su culminación. Agradezco el poder tener un trabajo con el cual he podido pagar mis estudios, pero en especial la paciencia de quienes fueron mis jefes, por el aporte del tiempo que me supieron dar en su momento. Agradezco a quienes supieron confiarme sus pacientes, mismos que me ayudan a crecer día a día y generar más conocimiento. A muchos amigos de fundaciones y organizaciones animalistas por sus palabras de aliento a cada momento. Gracias a fundación ARCA, que supieron darme un lugar desde que fui un adolescente y que gracias a las personas que he conocido por medio de la misma, se me han abierto muchas puertas. A mi tutor de tesis, que ha sabido brindarme su confianza y no verlo como un docente sino como un amigo que me ha ayudado a cumplir este logro y obviamente a todos los docentes que han sabido brindarme parte de sus conocimientos, y más que allá, la paciencia, porque ellos saben que no he sido un alumno fácil.

INDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT.....	13
1. Introducción.....	14
1.1. Problema.....	15
1.2. Delimitación.....	16
1.2.1. Temporal.....	16
1.2.2. Espacial.....	16
1.2.3. Académico	16
1.3. Explicación del problema.....	16
1.3.1. Hipótesis	17
1.3.1.1. Alternativa.....	17
1.3.1.2. Nula.....	17
1.4. Objetivo.....	17
1.4.1. Objetivo General.....	17
1.4.2. Objetivos Específicos.....	17
1.5. Fundamentación Teórica	17
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL.....	18
2.1. Sobrepoblación canina	18
2.2. Proyectos de esterilización de perros y gatos.....	18
2.3. Agente etiológico	19
2.3.1. <i>Brucella abortus</i>	19

2.4.	Distribución geográfica	19
2.5.	Brucelosis	19
2.6.	Transmisión.....	20
2.7.	Brucelosis como enfermedad zoonótica.....	21
2.7.1.	Signos clínicos en el ser humano	21
2.8.	Brucelosis en perros	22
2.9.	Diagnóstico.....	23
2.9.1.	Rosa de Bengala.....	23
2.9.2.	RSAT	23
2.9.3.	ELISA	23
2.10.	Tratamiento.....	24
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1.	Materiales	25
3.1.1.	Físicos	25
3.1.2.	Químicos	26
3.1.3.	Biológicos	26
3.2.	Metodología	26
3.3.	Diseño estadístico.....	27
3.4.	Población y muestra	27
3.5.	Desarrollo del ensayo	27
3.5.1.	Kit de ELISA	28

3.6. Consideraciones Éticas.....	29
4. RESULTADO Y DISCUSIÓN	30
4.1. Resultados	30
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1. Conclusiones	36
5.2. Recomendaciones.....	36
6. Bibliografía.....	38
7. Apéndice/Anexos.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales Físicos	25
Tabla 2. Materiales Químicos	26
Tabla 3. Materiales Biológicos	26
Tabla 4. Resultados de pools	44
Tabla 5. Código de pools y paciente. Perteneciente al cantón Santa Isabel	45
Tabla 6. Código de pools y paciente. Perteneciente al cantón Santa Isabel	46

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Densidad Óptica. Cantón Paute	30
<i>Figura 2.</i> Densidad Óptica. Cantón Santa Isabel.....	31
<i>Figura 3.</i> Razas presentes en el proyecto. Cantón Paute.....	31
<i>Figura 4.</i> Razas presentes en el proyecto. Cantón Santa Isabel	32
<i>Figura 5.</i> Procedencia de perros del cantón Paute y Santa Isabel	32

RESUMEN

El presente trabajo determinó la prevalencia de *Brucella abortus* en caninos en campañas de esterilización desarrollados en los cantones de Santa Isabel y Paute, mediante la prueba de ELISA indirecto. La cantidad total de pacientes muestreados fueron de 170, de los cuales se obtuvo las muestras sanguíneas, antes de ser sometidos al proceso quirúrgico. De cada muestra sanguínea se extrajo 1.5 ml de suero, al término de la obtención se procedió a congelar hasta su uso. Se realizaron pools de 10 pacientes cada uno, y al correr la prueba los resultados fueron negativos, tanto para el cantón Santa Isabel y Paute, es decir 0 % de prevalencia, por tal razón no se procedió a realizar la prueba por cada animal.

ABSTRACT

The present work determined the prevalence of *Brucella abortus* in canines in sterilization campaigns carried out in the cantons of Santa Isabel and Paute, using the indirect ELISA test. The total number of patients sampled was 170, from which blood samples were obtained before undergoing the surgical procedure. 1.5 ml of serum was extracted from each blood sample, at the end of obtaining it, it was frozen until use. Pools of 10 patients each were made, and when the test was run the results were negative, both for the Santa Isabel and Paute cantons, that is, 0% prevalence, for this reason the test was not carried out for each animal.

1. Introducción

Las enfermedades de carácter zoonótico es un problema que se presenta en nuestra vida profesional, debido a que tratar con diferentes especies animales puede ponernos en peligro, sin embargo, saber la existencia, su prevalencia, sus signos clínicos y mucho más la manera de evitarlos es lo importante.

Los perros son animales con los que convive el ser humano desde la antigüedad, por lo que su trato ha ido cambiando con el pasar del tiempo, ya no se los considera como animales solo de trabajo, sino también como amigos, y conviven con nosotros y se comparte mucho con ellos. El tener un animal no es un derecho humano pero la humanidad en su mayor parte cree eso, tener un perro implica tenerlo con sus vacunas, desparasitaciones, visitas periódicas con el médico veterinario, entre otras muchas más cosas, lamentablemente a diario muchas personas tienen perros a los que ocasionalmente se les logra diagnosticar enfermedades, siendo algunas de carácter zoonótico.

La sobre población canina es un problema recurrente que muchos organismos tratan de controlar, para lo cual se han diseñado programas de estabilización de la población canina, siendo dirigidas a personas de escasos recursos, animales callejeros, ferales, para lo cual dependiendo del financiamiento se logra altas normas de bioseguridad. Lamentablemente al ser proyectos donde se busca alta calidad y alta cantidad se olvidan ciertos detalles como el cuidado de la salud de las personas que se dedican a estos trabajos, y no nos referimos a evitar mordeduras y su manipulación en general, sino al manejo de fluidos, por ejemplo, la manipulación de la sangre, órganos, entre otros, siendo que mientras menos manipulación humana, más cuidado.

La *Brucella abortus* es una enfermedad que tiene más incidencia de contaminación con otras especies animales como bovinos, ovinos, caprinos, dejando de lado al canido y realmente el

riesgo es cuando uno de estos últimos mencionados ha tenido contacto con otra especie portadora, volviéndose uno más.

La brucelosis es causada por especies del género *Brucella*, que son bacterias gramnegativas. Los síntomas aparecen como un cuadro febril agudo con pocos o ningún signo de localización, y pueden progresar a una etapa crónica con recaídas de fiebre, debilidad, sudoraciones y dolores vagos. El diagnóstico se establece con el cultivo, generalmente en muestras de sangre. El tratamiento óptimo suele requerir 2 antibióticos: doxiciclina o trimetoprima/sulfametoxazol (TMP/SMX) más gentamicina, estreptomina o rifampicina (Bush y Pertejo, 2020).

Por lo que en el presente trabajo se analizará si los canes pueden ser transmisores y personas que los manipulan corren un riesgo.

1.1. Problema

En la actualidad existen varias entidades gubernamentales y no gubernamentales que se encuentran trabajando en proyectos de estabilización poblacional canina, mismas que son ejecutadas por médicos veterinarios, estudiantes, voluntarios, entre otros. Tomando en cuenta que la mayor parte, por no decir su totalidad, son pacientes que ingresan a quirófano sin exámenes previos que los dejen exentos de enfermedades que sean un peligro para el paciente como para los tratantes y mucho más en este caso, al tratarse de una enfermedad de carácter zoonótico.

La enfermedad en los animales como en el humano puede ser sintomática como asintomática, siendo la última una forma grave, debido a que la patología se puede distribuir con mayor facilidad. Lamentablemente al no tener claro el panorama, no se la logra detectar a tiempo y se la puede confundir con otras enfermedades, dando malos diagnósticos y por ende sus tratamientos.

1.2. Delimitación

1.2.1. Temporal

El presente trabajo de investigación tuvo una duración de 400 horas, distribuidos en un lapso de cuatro meses hasta su culminación.

1.2.2. Espacial

La investigación se llevó a cabo en:

Paute está en la latitud sur 2°46'55'' y longitud oeste 78°45'6'', tiene una extensión de 271 Km², y está a 2100 m.s.n.m, su clima sub tropical–templado permite la producción de una gran variedad de flores y frutos. (Once, 2015)

Santa Isabel “Se localiza en los puntos más extremos 79°34'53”W 2°54'19”S al Norte, 79°16'57”W 3°22'14”S al Sur, 79°13'15”W 3°17'13”S al Este y 79°37'30”W 2°59'30”S al Oeste, este cantón se encuentra a una altitud que va desde los 100 hasta los 4000 m.s.n.m. por lo cual presenta una gran variedad de zonas de vida” (Mancomunidad de la Cuenca del Río Jubones, 2005).

1.2.3. Académico

El presente trabajo de investigación fue realizado en clínica menor, en el área de laboratorio clínico, enfocado a identificar y determinar la prevalencia de la bacteria *Brucella abortus* en caninos, en campañas de esterilización masiva, mediante la técnica de ELISA indirecto.

1.3. Explicación del problema

La medicina veterinaria tiene un amplio campo de trabajo, por lo que el manejo de los animales es inevitable, siendo los caninos una especie que se trata a diario, teniendo otro factor

que es la sobre población canina, misma que últimamente se está trabajando arduamente para estabilizar la misma; clínicas veterinarias, instituciones educativas, fundaciones, organizaciones, activistas independientes promueven la esterilización a través de programas a bajos costos, lo que conlleva en la mayor parte de casos no realizar exámenes previos y mucho menos estudios complejos, por lo cual se ignora el estado real del paciente, así como enfermedades pre-existentes que impliquen riesgos. Lo que se busca con esta investigación es determinar la prevalencia de esta enfermedad en los perros y a la vez determinar el riesgo que implica para la población.

1.3.1. Hipótesis

1.3.1.1. Alternativa

La prevalencia de *Brucella abortus* en perros (*Canis lupus familiaris*) es alta en los cantones de Santa Isabel y Paute.

1.3.1.2. Nula

La prevalencia de *Brucella abortus* en perros (*Canis lupus familiaris*) es baja en los cantones de Santa Isabel y Paute.

1.4. Objetivo

1.4.1. Objetivo General

- Determinar la prevalencia de *Brucella abortus* en pacientes esterilizados en campañas masivas, en los cantones Santa Isabel y Paute respectivamente.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de *Brucella abortus* en caninos esterilizados.
- Utilizar prueba de ELISA indirecta para la identificación de *B abortus*.

1.5. Fundamentación Teórica

El presente trabajo experimental ayudó a determinar la presencia de una enfermedad de carácter zoonótico en animales de compañía, misma que era solo atribuida a otras especies, como los bovinos. Tener conocimiento sobre su incidencia nos permite tomar medidas de precaución para evitar la diseminación de la enfermedad tanto a animales humanos como no humanos, y así mismo dar tratamiento a los pacientes contaminados.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Sobrepoblación canina

En el año de 1992 la Organización Mundial de la Salud declaró que a nivel mundial existían alrededor de 500 millones de perros, del cual cerca del 75% correspondían a animales callejeros, para el año 2003 se estimaba que existía un perro por cada 8 personas, mientras que en el año 2016 el número de perros subió a 600 millones a nivel mundial, siendo que el 80% eran callejeros (Alvarado, Villatoro, Chávez, y Arizandieta, 2017).

“El problema de la sobrepoblación canina tiene un efecto directo en la salud humana ya que existen más de 65 enfermedades zoonóticas como la rabia, leptospirosis, anquilostomiasis, larva migrans, erliquiasis, brucelosis, cestodiasis, salmonelosis, entre otras, que los perros pueden transmitir” (Ortega-Pacheco, 2001).

2.2. Proyectos de esterilización de perros y gatos

En términos generales podríamos mencionar que existen aproximadamente 600 millones de perros en el mundo, de los cuales alrededor del 80% por ciento son callejeros; se estima que los gatos presentan un porcentaje similar. Además de los problemas serios de bienestar de los propios animales que se encuentran en la calle, como hambre, frío, enfermedades y miedo, los perros y gatos callejeros ocasionan varios problemas, que afectan tanto a personas como a otros animales. (UNIDAD GESTION ANIMAL - GAD CUENCA, 2020)

2.3. Agente etiológico

2.3.1. *Brucella abortus*

El (Instituto Nacional de Seguridad E Higiene En El Trabajo, 2013) señala *Brucella* pertenece a la familia Brucellaceae. Son bacilos cortos o cocobacilos Gram negativo, con tamaño entre 0,5-0,7 x 0,6-1,5 micras, aerobios, inmóviles, no formadores de esporas ni cápsulas y de crecimiento lento.

Se trata de parásitos intracelulares facultativos, pudiendo resistir en las células fagocitarias.

Algunas especies de *Brucella* incluyen biovariedades, habiéndose informado cinco biotipos para *B. suis*, tres para *B. melitensis* y hasta nueve para *B. abortus*. *B. melitensis* es considerada la más peligrosa para el hombre.

Dado su potencial infectivo, algunas especies de *Brucella* podrían ser utilizadas en un ataque bioterrorista, estando incluidas en la lista de agentes potenciales de bioterrorismo (categoría B, agentes de segunda prioridad).

Las brucelas pertenecen a las -2 Proteobacteria, junto con patógenos y endosimbiontes peri o intracelulares de vegetales o animales. La mayoría de las brucelas poseen dos cromosomas, pero carecen de plásmidos y fagos lisogénicos, lo que, junto con su confinamiento ecológico, explica su uniformidad genética. Aunque controvertida, las especies clásicas (como *B. melitensis* y *B. ovis*) tienen validez científica y práctica. Los lípidos de la envoltura de *Brucella* difieren de muchos gram-negativos y se relacionan con el ácido-alcohol resistencia (Stamp). El periplasma contiene proteínas, mureína y glucanos cíclicos (Moriyón y López, 2002).

2.4. Distribución geográfica

Esta es una enfermedad que está ampliamente distribuida en el mundo, generando problemas tanto económicos, así como de salud.

2.5. Brucelosis

(Rivers, Andrews, Gomzales-Smith, Donoso, y Oñate, 2006) afirman lo siguiente: “La brucelosis es una zoonosis cuya incidencia y prevalencia varían de un país a otro. La infección causada por la especie *Brucella abortus* es la que más frecuentemente afecta al ganado bovino, causando esterilidad en machos y abortos en hembras preñadas, lo que conduce a graves pérdidas económicas en países en los que es endémica. En países no desarrollados constituye además un problema sanitario para la población humana.”

Variedad de afecciones pueden causar cuadros febriles en pacientes humanos, siendo más de 500000 casos nuevos relacionados con esta enfermedad de carácter zoonótico en el año (Tique y Marco Gonzalez, 2009).

2.6. Transmisión

De acuerdo a (MINISTERIO DE SALUD DE LA NACION, 2013)

Las vías de transmisión al humano pueden resumirse en:

- Contacto: de piel o mucosas con tejidos de animales infectados o sus productos como ganglios, sangre, orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados y en especial placentas.
- Este mecanismo es el más frecuente en el medio rural y puede llegar a ser el responsable del 60%-70% de todos los casos registrados. Afecta a trabajadores rurales, veterinarios, matarifes y ganaderos, aunque también puede afectar a trabajadores de laboratorio o de servicios de salud.
- Ingestión: de alimentos no pasteurizados de origen animal, como leche y sus derivados (quesos, crema, manteca, helados) y en menor medida carnes poco cocidas (la carga bacteriana en el tejido muscular animal es baja).

- Inhalación: de polvo en los lugares contaminados donde hay animales infectados, como establos, mataderos, salas de recepción de leche, camiones jaula para transporte de ganado, etc.
- Inoculación: de material infectado-contaminado por *Brucella* spp. Este tipo de transmisión afecta fundamentalmente a veterinarios, matarifes y personal de laboratorio. También se ha descrito la enfermedad por auto inoculación accidental de vacuna de *Brucella abortus* cepa 19 y *B. melitensis*
- Perinatal: por vía transplacentaria, por la ingestión de leche materna o por la exposición a sangre, orina o las heces de la madre infectada durante el parto.

2.7. Brucelosis como enfermedad zoonótica

(Jarrín, 2015) Brucellosis is a zoonosis and nearly every human case has a direct (contact) or indirect origin. The main sources of *Brucella* are infected animals or their fluids or tissues such as: raw milk, urine, blood, carcasses, placenta and miscarriage calf products. Transmission ways are via ingestion or inhalation, or through conjunctiva or skin abrasions.

Brucellosis is an occupational disease and the risk groups are veterinarians, slaughterhouse and laboratory workers and livestock caretakers. (p. 108)

(Hernandez, Rodriguez, Calderón, y García, 2016)” La brucelosis es una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes en la mayor parte del mundo. Mientras que en los países desarrollados han logrado con éxito su control, en los países en vías de desarrollo continúa siendo un gran problema de salud pública. Se señala que cada año se presentan 500.000 nuevos casos de brucelosis humana en todo el mundo.”

“La infección producida por *B. abortus*; pueden pasar meses, e incluso años, antes de presentarse sintomatología” (Sánchez-Jiménez, Giraldo-Echeverri, y Olivera-Angel, 2013).

2.7.1. Signos clínicos en el ser humano

“La enfermedad se puede manifestar en forma subclínica, subaguda, aguda y crónica y suele aparecer después de un periodo de incubación de 7 a 21 días” (Freer y Castro-Arce, 2001).

(Hernandez, Rodriguez, Calderón, y García, 2016) La brucelosis en los humanos se presenta con diferentes manifestaciones clínicas inespecíficas, incluyendo cuadros asintomáticos. Usualmente se presenta como un cuadro febril agudo, afectando a cualquier grupo de edad. Puede confundirse con otras infecciones febriles y recibir tratamiento inadecuado, por lo que la enfermedad podría persistir y manifestarse como una recaída o progresar a una infección crónica localizada. Esta enfermedad compromete a cualquier órgano o tejido del cuerpo, y genera una serie de complicaciones; entre las más comunes están las osteo-articulares, hepato-biliares, de vías respiratorias, genito-urinarias, cardiovasculares, neurológicas, cutáneas, y oftálmicas. Aun cuando se realice el diagnóstico temprano y se prescriba correctamente la terapia, alrededor de 10 a 30% de los pacientes desarrollará brucelosis crónica.

El cuadro clínico es generalizado, de comienzo agudo o insidioso, caracterizado por fiebre continua, intermitente o irregular, de duración variable, cefalea, debilidad, sudor profuso, escalofríos, artralgias, depresión, pérdida de peso y malestar general. Ocasionalmente surgen infecciones localizadas supurativas de órganos, incluyendo el hígado y el bazo. También se han documentado cuadros subclínicos e infecciones crónicas localizadas (Chanto, y otros, 2007).

2.8. Brucelosis en perros

Hasta el año 2011 en investigaciones realizadas en Chile, se ha detectado la bacteria en perros domésticos que viven en zonas urbanas, pero la prevalencia es mayor en otros estudios que no se habían publicado hasta esa fecha (Tuemmers, y otros, 2013).

“La brucelosis en perros fue reportada en todo el mundo, siendo endémica en América, Asia y África, donde los estudios serológicos en numerosos países establecieron una gama de seropositividad del 1 al 28 %” (Miceli, Pérez, Peralta, y Mórtola, 2019).

“La infección canina por *B. abortus* es esporádica e infrecuente. Si bien los perros de granja y/o que frecuentan alrededores de la industria animal y basureros de las ciudades, se los puede considerar como posibles portadores y deberían incluirse en cualquier investigación y erradicación de brucelosis para romper ciclos de esta entidad epizootica” (Molina, y otros, 2017).

“La bacteriemia persiste en el animal por largos períodos que pueden prolongarse durante años. Si los perros enfermos no se aíslan, la infección se disemina rápidamente. El control de la enfermedad incluye castración y tratamiento o eutanasia de los animales enfermos, y cuarentena con seguimiento serológico de los sospechosos” (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani, y Lucero, 2008)

2.9. Diagnóstico

2.9.1. Rosa de Bengala

Uno de los métodos más antiguos y que aún se usan para la detección, tenemos la prueba a través de la Rosa de Bengala, mismas que usan *Brucella abortus* cepa 119-3 y la 99S, su uso brinda un diagnóstico entre el 97 y 100% (Quintero, y otros, 2014).

2.9.2. RSAT

(MINISTERIO DE SALUD DE LA NACION, 2013) Indica:

Técnica de microaglutinación en portaobjeto (RSAT) Es una prueba de tamizaje, rápida, práctica y económica que fue descripta para el diagnóstico de brucelosis canina y es utilizada en el diagnóstico de brucelosis causada por *B. canis* en humanos. Es cualitativa y se interpreta como positiva o negativa.

2.9.3. ELISA

ELISA indirecto (ELISA) Es una prueba muy sensible y específica utilizada como confirmatoria, para el diagnóstico de brucelosis humana, en casos de infección por *B. canis*. Tiene una sensibilidad y especificidad del 100%.

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza como sus siglas lo indican una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Existen diversas variaciones al método de ELISA para detectar y cuantificar ligandos de alto peso molecular (>30000 daltons), el marcador enzimático que se emplea en estos análisis se conjuga con un ligando, que puede ser un antígeno, un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anticuerpo para el anticuerpo primario. Casi todas las pruebas ELISA son ensayos en fase sólida en los cuales se adsorbe un antígeno o un anticuerpo sobre un soporte sólido (Guzmán-Vasquez, 2004).

2.10. Tratamiento

(López, Andraca, y Weber, 2008) El esquema (A) el cual es considerado como de elección en adultos y que consiste en la administración de una tetraciclina como la doxiciclina junto con un aminoglucósido, la gentamicina es el más recomendado. El esquema (B), considerado como de primera elección en niños, incluye la asociación de trimetoprim con sulfametoxazol con rifampicina y el esquema (C), recomendado en casos de fracaso terapéutico a los esquemas (A) y (B) engloba la administración de doxiciclina y rifampicina.

El uso de quinolonas, tanto en monoterapia como en asociación con otro grupo de fármacos no ha demostrado buenos resultados. (p. 163)

(Ramirez, 2016) Tratamiento antibiótico: recomendado solo para perros que no están en reproducción o que estén castrados o esterilizados. Resultado de la terapia antibiótica: incierto en el mejor de los casos. Si se intenta el tratamiento antibiótico en perros enteros: tener en cuenta que el riesgo de transmisión a otros perros sigue presente.

Propósito del tratamiento antibiótico: hacer que los perros se conviertan a negativos y permanezcan abacteriémicos durante 3 meses por lo menos. Mejor eficacia del tratamiento: se logra con doxiciclina en altas dosis combinada con estreptomina inyectable. (p. 183-184)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Físicos

Tabla 1. *Materiales Físicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Pipeta de 10ul	Unidad	1
Pipeta de 100ul	Unidad	1
Pipeta de 200ul	Unidad	1
Tubos tapa roja (10cc)	caja de 50 unidades	4
Tubos cónicos centrifuga de 15cc	caja de 50 unidades	4
Puntas amarillas de 200ul	caja de 1000 unidades	1
Puntas blancas de 10ul	caja de 1000 unidades	1
Guantes	caja (100 unidades)	2
Alcohol	Litro	1
Probeta	Unidad	1
Cooler	Unidad	1
Gorra desechables	Caja 100 unidades	1
Bolígrafo	Unidad	2
Mandil	Unidad	1
Fuchas de registro de pacientes	Unidad	4

3.1.2. Químicos

Tabla 2. *Materiales Químicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Alcohol	Unidad	1
Kit de ELISA indirecta	Caja	1
Agua destilada	Litro	2

3.1.3. Biológicos

Tabla 3. *Materiales Biológicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Sangre	tubo	1

3.2. Metodología

La investigación se realizó en la provincia del Azuay en los cantones de Paute y Santa Isabel. La presente investigación tuvo una duración de 6 meses a partir de su aprobación.

Corresponde a un estudio epidemiológico descriptivo, prospectivo de corte transversal y causal dado que, en una primera oportunidad se determina la presencia de *Brucella abortus*. La presencia de anticuerpos para el agente etiológico, y luego se calcula la prevalencia del mismo en la población de estudio.

3.3. Diseño estadístico

Para el análisis se utilizó una estadística descriptiva prospectiva de corte transversal de datos, con el fin de organizar, sintetizar, analizar y exponer la información.

3.4. Población y muestra

Los pacientes se obtuvieron de proyectos de esterilización realizados en los cantones de Paute y Santa Isabel respectivamente. Se obtuvieron un total de 170 muestras de suero entre machos y hembras. Las muestras fueron obtenidas sin ningún tipo de discriminación.

3.5. Desarrollo del ensayo

Para realizar los proyectos de esterilización las autoridades de la carrera de medicina veterinaria y zootecnia se organizan con los GADs cantonales, estableciendo fechas para las mismas. Posteriormente se moviliza a los alumnos hacia los cantones junto a docentes, en esta ocasión se establece que se deberá de extraer muestras sanguíneas a los pacientes antes del procedimiento quirúrgico para realizar este trabajo de investigación. Los propietarios de los perros debieron de registrar a cada uno de ellos, con datos como: nombre, edad, sexo, tipo de alimentación, lugar de procedencia, sí era callejero o tenía tutores y desde luego los datos del propietario; siguiente a esto, el paciente acude hacia los estudiantes que se localizan en el área de preparación, en donde se procedió a tomar las muestras y posterior la preparación misma.

La cantidad de sangre extraída por paciente es un equivalente a 5ml, misma que después de obtenida, se procede a centrifugar para obtener un mínimo de 1.5ml de suero. En todos los pacientes se usó la vena yugular, debido a que el flujo es en mayor cantidad y el riesgo de infiltrarla es menor, no así con las venas safenas y cefálicas. Se debe tomar en cuenta que al ser animales que están estresados no se podía cometer errores para su extracción, ya que no tolerarían la punción por repetidas ocasiones.

El suero obtenido se lo coloca en tubos de micro-centrifuga donde se las rotuló con el código del paciente para su posterior almacenamiento, mismo que se lo hizo en refrigeración. Pasos similares se lo realizó tanto en el cantón de Santa Isabel como en Paute.

Ya en el laboratorio de biotecnología las muestras se utilizaron de la siguiente manera, de cada tubo de suero de cada paciente, se extrajo 100ul y se colocaba en un nuevo tubo de micro-centrifuga, siendo que por pool debía ser de 10 pacientes, a los cuales se los volvía a rotular, en el caso del cantón Paute resultaron 8 pools de 10 pacientes cada uno y un último pool de 6 pacientes; de Santa Isabel se prepararon 8 pools de 10 pacientes por cada uno y un último pool de 4 pacientes.

3.5.1. Kit de ELISA

Posterior a la preparación de los pools, se continuó con el procedimiento como lo recomendaba la guía que estaba junto al kit de ELISA, misma que se indica como la guía lo dice:

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados y homogenizarlos por inversión.

- Distribuir:
 - 190ul de diluyente 2 en cada pocillo.
 - 10ul de control negativo en los pocillos A1 y B1.
 - 10ul de control positivo en los pocillos C1 y D1.
 - 10ul de cada muestra o mezcla de 10 sueros a analizar en cada uno de los pocillos restantes.
- Incubar 45 minutos ($\pm 4\text{min}$) a $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.

- Lavar 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300ul de solución de lavado. Evitar el desecado de los pocillos entre los lavados.
- Preparar el conjugado 1X diluyendo el concentrado 10X al 1:10 en diluyente 3.
- Distribuir 100ul del conjugado 1X a todos los pocillos.
- Incubar 30 minutos +/- 3 minutos a 21°C. (+/-5°).
- Lavar 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300ul de solución de lavado. Evitar el desecado de los pocillos entre los lavados.
- Distribuir 100ul de solución de revelación en cada pocillo.
- Incubar 15 minutos (+/-2 minutos) a 21°C (+/-5°C) en la oscuridad.
- Distribuir 100ul de solución de parada en cada pocillo para detener la reacción.
- Posteriormente se debe leer a una densidad óptica de 450nm.

3.6. Consideraciones Éticas

El estudio realizado “Identificación y determinación de la prevalencia de *Brucella abortus* en caninos (*Canis lupus familiaris*), en campañas de esterilización masiva, mediante la técnica de ELISA indirecta”, tuvo un mínimo de impacto sobre los pacientes, recordaremos las 5 libertades de los animales.

La OIE afirma lo siguiente: Los animales deben ser “libres de hambre, de sed y de desnutrición; libre de temor y de angustia; libre de molestias físicas y térmicas; libre de dolor, de lesión y de enfermedad; libre de manifestar un comportamiento natural” (Organización Mundial de la Sanidad Animal, 2019).

Ahora si tomamos en cuenta lo antes expuesto, la segunda libertad, libre de temor y angustia, no es algo que se lo infligió con intenciones de maldad, sino es algo inevitable en la mayor parte de casos, debido a que son animales que no conocen a las personas que los manipulan, y

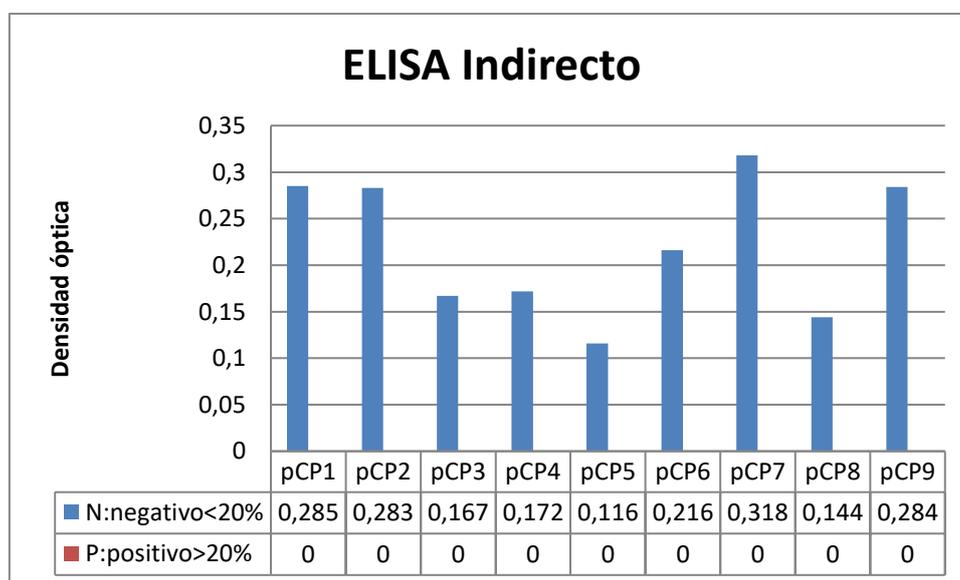
la reacción de cualquier ser vivo al observar que un extraño trata de manipularnos, pues la reacción será repetitiva.

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

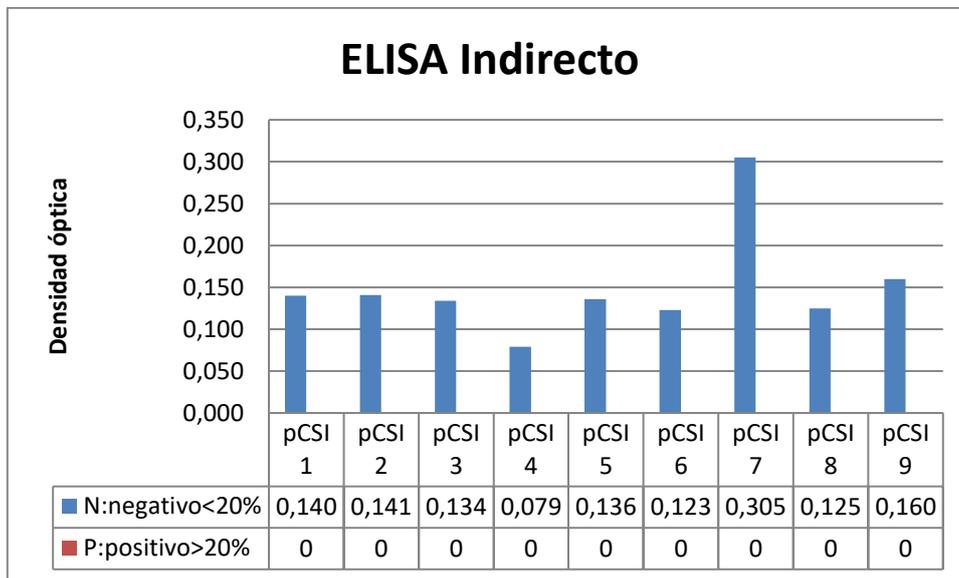
De acuerdo al interceptum del test de ELISA Indirecto, se indica que los positivos deberán dar resultados superiores a 20%, por el contrario, los valores por debajo o igual de 20% serán negativos.

Figura 1. Densidad Óptica. Cantón Paute



Tenemos entonces que, de los primeros nueve pools, correspondientes al cantón Paute, todos resultan negativos. Cabe recalcar que el noveno pool fue hecho de 6 muestras de pacientes y no de 10, como lo fueron los otros pools. En este caso se puede observar que la carga de antígenos es alta, tomando en cuenta el número de muestras que contiene.

Figura 2. Densidad Óptica. Cantón Santa Isabel



En el caso de los nueve pools finales pertenecientes al cantón Santa Isabel, también resultaron negativos, siendo aclarado que el último pool pertenece a 4 muestras de pacientes.

Figura 3. Razas presentes en el proyecto. Cantón Paute

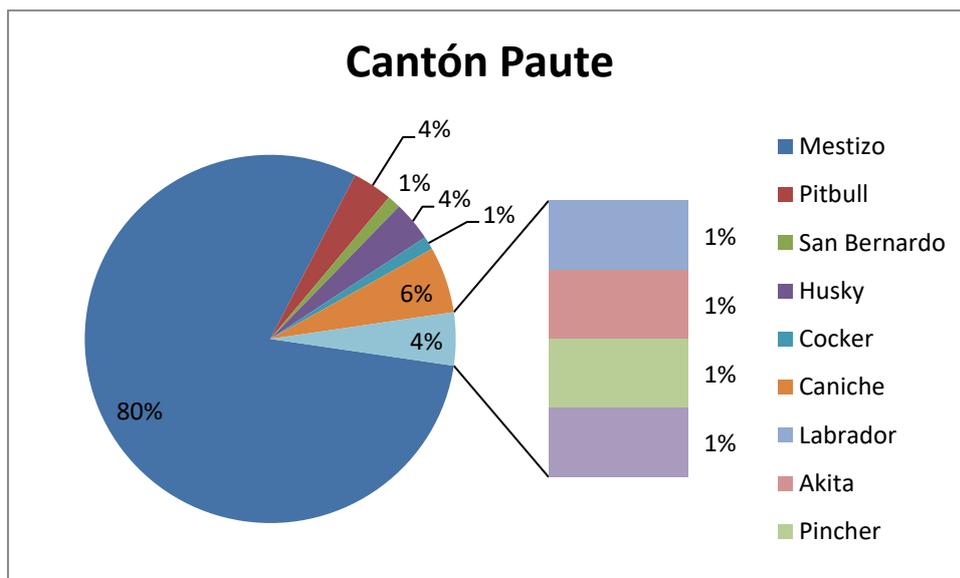


Figura 4. Razas presentes en el proyecto. Cantón Santa Isabel

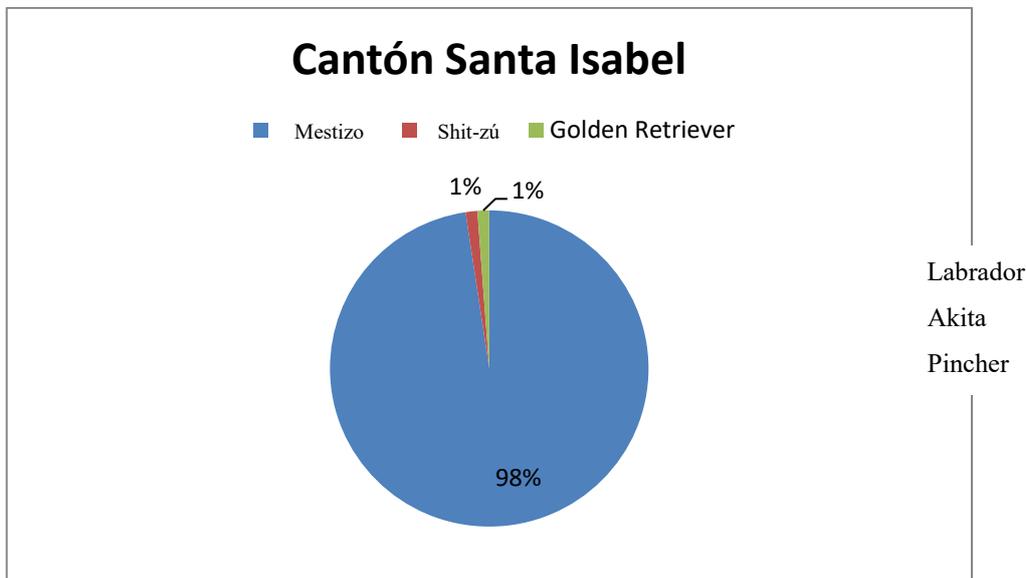
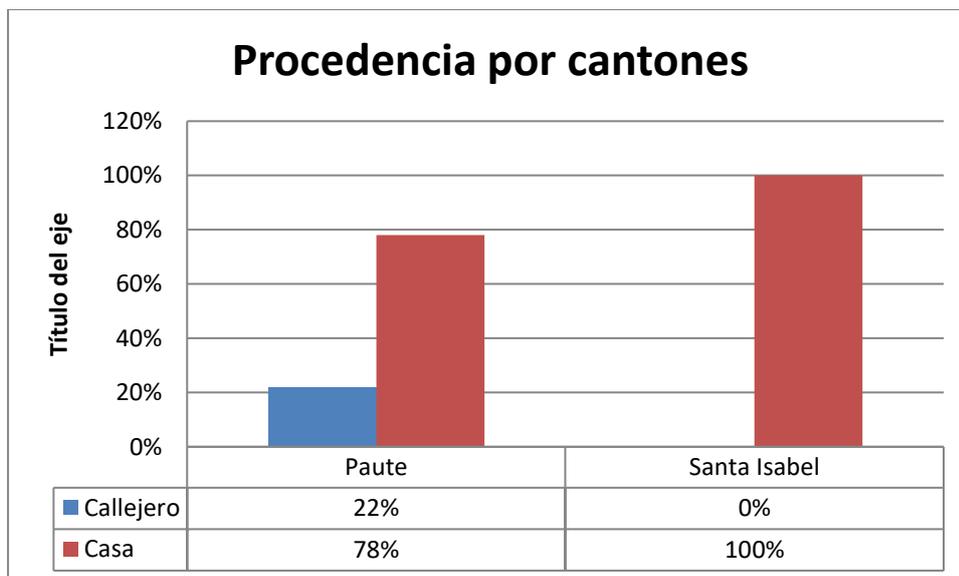


Figura 5. Procedencia de perros del cantón Paute y Santa Isabel



En un estudio realizado en un criadero de la ciudad de México, de una población de 33 perros de raza schnnauzer con las pruebas de tarjeta y 2-mercaptoetanol, el 45,4% resultaron ser positivos, en donde se utilizó suero sanguíneo (Mendez, Mota, Beatriz Arellano, y Díaz, 1999). A pesar de que estas pruebas no tienen una gran sensibilidad a la enfermedad de brucelosis, en esa ocasión pudieron mostrar resultados positivos, sin embargo, podría estar

relacionado con el tipo de pacientes muestreados, siendo que en México fueron obtenidos de criaderos, es decir, la sangre obtenida fue de animales hacinados posiblemente, donde intervienen algunos factores que no sabemos, como grado de hacinamiento, consanguinidad, bioseguridad, calendarios de vacunas, desparasitación, controles médicos, alimentación, entre otros; mientras que en nuestro caso los animales fueron provenientes desde distintos puntos de los cantones que tenían hogar de cierta manera, sin embargo los datos anteriores también los ignoramos, pero la diferencia sería que no hay animales acumulados en un espacio que implique riesgos por el tipo de manejo consciente o inconsciente.

En nuestro estudio se puede apreciar que la raza más común de muestreo, son los perros mestizos, seguidos de los caniches. La cantidad de animales de alguna raza en específica, sin ser la mestiza, es menor, debido a que para obtenerlos debe ser mediante una compra o de cualquier otra forma, además los proyectos de esterilización están destinados a personas de escasos recursos. Los cuidados y procedencia de “razas” también está relacionado con las enfermedades, debido a que su manejo es algo más estricta, y su relación con ciertas enfermedades es reducida, esto no quiere decir que perros como ellos no pueden contraer la enfermedad, al contrario, al ser menos rústicos, son mucho más propensos.

En el estudio realizado en el municipio de Envigado, Colombia se obtuvo que “con respecto a la evaluación serológica para la presencia de *Brucella canis* en los caninos se pudo determinar, a través del método de inmunocromatografía, que el 100% de los caninos muestreados en los dos albergues del municipio de Envigado, resultó negativa para anticuerpos contra *B. canis*” (Agudelo, Molina, Arias, y Madrigal, 2014).

De acuerdo a este último autor mencionado, se observa que los animales muestreados siguen sin estar en contacto con ganado, debido a que generalmente en los albergues se encuentran encerrados sin opción de estar en contacto con otras especies animales, además hay que tomar

en cuenta que la mayoría se encuentran esterilizados para controlar la población dentro de los mismos, así que por lo menos uno de los signos de la enfermedad como abortos espontáneos no se presenta. En nuestro caso son animales que provienen de sitios donde son supervisados tanto por los propietarios o por personas que actúan como sus protectores, siendo así que no son animales ferales, los cuales son animales que fueron abandonados por los propietarios o han ido poblando una zona y su crecimiento y comportamiento es de forma salvaje, mismos que tienden a deambular en manada y a cazar su alimento o comer desperdicios (Maisanche, 2019). Por lo tanto el estudio mencionado coincide con nuestro estudio, con 100% de sero negatividad.

La cantidad de animales hembras que fueron esterilizados en los dos cantones es superior a los machos, esto es muy importante, debido a que ellas son las que pueden continuar procreando. De acuerdo a Carlos Esquivel, en una simulación realizada con 2 partos al año y que en cada uno de ellos solo tenga 2, se calcula en 5 años alrededor de 2048 cachorros (Esquivel, 2013). Con las esterilizaciones ejecutadas se evita problemas de salud como es el caso de la brucelosis, que como anteriormente ya se mencionó, es de carácter zoonótica. Se debe recalcar que la ignorancia de ciertas enfermedades de este tipo es alta, por lo cual la prevención es baja por no decir nula.

En el estudio realizado por (Kressler, 2014) la muestra de estudio estuvo conformada por 118 perros (*Canis lupus familiaris*) de varias razas y con edades entre los 6 meses y 16 años, que tienen contacto con ganado o subproductos del mismo, en 3 comunidades de la parroquia Juan Montalvo en el cantón Cayambe, Pichincha, Ecuador. Los resultados de la prueba RB muestran una mayor incidencia de animales positivos en la comunidad de San Luis de Chaguarpungo, con 2.54% (n=3) animales positivos, todos con 2 cruces (++) de aglutinación a la prueba, y en Santa Anita de Ancholag 1.69% (n=2) positivos con 3 cruces (+++) de aglutinación.

Nuevamente podemos observar que influye el estar en contacto con fuentes de transmisión, en este caso se observa que se muestrearon animales que tenían contacto con ganado o productos obtenidos de ellos, sin embargo, la prueba de elección es la rosa de bengala, independientemente de esto último, hay la existencia de pacientes seropositivos. Si usáramos otro tipo de prueba como ELISA, posiblemente se repita la seropositividad y en este caso, si fuese importante también aplicar las pruebas a las personas que manejan los animales.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo a los resultados expuestos con anterioridad, se puede concluir que la prevalencia de *B abortus* es baja, a pesar que en los cantones de donde se obtuvieron las muestras son zonas ganaderas, sin embargo, hay que considerar que los perros pertenecían en su mayor parte a hogares donde el contacto era mínimo con bovinos. En la recepción de pacientes se tomaba en cuenta la procedencia, siendo que en el cantón Santa Isabel el 100% eran de casas y su alimentación se basaba en comida casera o croquetas. Por otra parte, en el cantón Paute el 21.8% de los animales esterilizados son callejeros, mismos de los cuales la población se encarga de su alimentación, debiendo ser considerados animales comunitarios y no ferales.

No existen estudios de antecedentes de signos de la enfermedad en la población de los animales, si bien puede haber hembras con historial de abortos, no existen registros.

La población ignora el estado real de salud de sus animales, la existencia de enfermedades de carácter zoonótico, la importancia del médico veterinario. Dentro de esta población están los propietarios, rescatistas, médicos veterinarios, entre otros.

5.2. Recomendaciones

Estos proyectos de esterilización son muy importantes para lograr una estabilización de la población canina, para lo cual se debería trabajar con mayores medidas de precaución como el uso de guantes con cada paciente desde su inicio de manipulación, ya que no solo esta enfermedad es de carácter zoonótico.

Se podría realizar futuros estudios con animales ferales, y determinar la prevalencia de esta enfermedad en los mismos, sí bien el trabajo no es fácil, pero se podría determinar varias cosas con los mismos.

Animales muestreados del sector del camal también podrían ser parte del estudio, debido a que están cerca de bovinos, sus desechos, restos entre otros.

Un futuro estudio de prevalencia debería dirigirse a las personas que se encargan de manipular a los animales, debido a que la manera de transmisión puede ser variada y diagnosticar a tiempo puede servir para desarrollar técnicas de prevención y manejo.

Por ejemplo (Animal Balance Galapagos - GAD Galápagos, 2021) “Del 05 al 08 de abril en la Clínica Veterinaria de Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG) de la isla San Cristóbal, se realizaron 99 esterilizaciones a perros y gatos del cantón, esta actividad es una iniciativa de la ABG y el Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de San Cristóbal (GAD) con el apoyo de Animal Balance y el Fondo de Especies Invasoras de Galápagos (FEIG)”; estos obviamente ya son hechos por personas con mucha más experiencia, pero sería interesante preparar alumnos para proyectos similares o tratar de buscar que postulen para estos equipos, mismos que reciben voluntarios, y así la universidad adquiriera más reconocimiento y la misma carrera de medicina veterinaria.

6. Bibliografía

- Agudelo, P., Molina, V., Arias, V., y Madrigal, E. (Mayo-Agosto de 2014). Estudio Serológico de Brucelosis Canina en Dos Albergues del Municipio de Envigado, Colombia(2011). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 61(2), 134-141. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/280832671_ESTUDIO_SEROLOGICO_DE_BRUCELOSIS_CANINA_EN_DOS_ALBERGUES_DEL_MUNICIPIO_DE_ENVIGADO_COLOMBIA_2011
- Alvarado, A., Villatoro, D., Chávez, J., y Arizandieta, C. (2017). Caracterización de la población canina atendida en el centro municipal de atención canina de la ciudad de Guatemala. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(2), 1-9. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640028.pdf>
- Animal Balance Galapagos - GAD Galápagos. (2021). *Exitosa campaña gratuita de esterilización de mascotas en San Cristóbal*. Obtenido de Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos: <https://bioseguridadgalapagos.gob.ec/exitosa-campana-gratuita-de-esterilizacion-de-mascotas-en-san-cristobal/>
- Boeri, E., Escobar, G., Ayala, S., Sosa-Estani, S., y Lucero, N. (2008). Brucelosis Canina En Perros De La Ciudad De Buenos Aires. *Medicina* (68), 291-297.
- Bush, L. M., & Pertejo, M. V. (2020). *Merck Sharp & Dohme*. Obtenido de <https://www.msmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/brucelosis>

- Chanto, G., Rojas, N., Ching, A., Zuñiga, R., Castro, E., Chaverri, S., . . . Campos, E. (2007). Prevalencia de anticuerpos séricos contra la bacteria *Brucella* sp. en una población humana tropical. *Revista de Biología Tropical*, 55(2), 385-391. Obtenido de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442007000200004&script=sci_arttext&tlng=en
- Esquivel, L. (21 de Enero de 2013). Contaminacion por perros, peor que sus ataques. *EL Siglo de Torreón*. Obtenido de <https://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/831204.contaminacion-por-perros-peor-que-sus-ataques.html>
- Freer, E., y Castro-Arce, R. (Junio de 2001). *Brucella*: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 22(1-2), 73-82. Obtenido de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100008
- Guzmán-Vasquez, E. (2004). *Las Pruebas de ELISA*. *Gaceta Médica de México*. (40) p. 48-49. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11401>
- Hernandez, R. L., Rodriguez, A. C., Calderón, E. D., y García, M. R. (2016). Brucelosis: zoonosis de importancia en México. *Revista Chilena de Infectología*, 33(6), 656-662. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000600007
- Instituto Nacional de Seguridad E Higiene En El Trabajo. (23 de Septiembre de 2013). *Brucella spp*. Recuperado el 02 de Diciembre de 2021, de Instituto Nacional de Seguridad E

Higiene En El Trabajo:

<https://www.insst.es/documents/94886/353495/Brucella+spp.pdf/c6c266e1-f32a-4975-ae56-1cc9e6224672?version=1.0&t=1528734495419>

Jarrín, L. E. (2015). *Detecting Brucella Species in Ecuador (tesis de pregrado) Universidad San Francisco de Quito*. Quito.

Kressler, N. (2014). *Estudio de Prevalencia de Brucella spp. en Caninos (Canis familiaris), en el sector de Ancholag, Parroquia Juan Montalvo, en el Cantón Cayambe, Provincia de Pichincha, Ecuador. (Tesis de Pregrado)*. Universidad de las Américas, Ecuador. Recuperado el 05 de Noviembre de 2018, de <http://200.24.220.94/bitstream/33000/2948/8/UDLA-EC-TMVZ-2014-13.pdf>

López, C. A., Andraca, R. A., y Weber, F. L. (2008). Brucelosis. Una infección vigente. *Acta Médica Grupo Ángeles* 6(4), 163.

Maisanche, F. (19 de Julio de 2019). Perros ferales atacan al ganado en Cotopaxi. *El Comercio*. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/perros-ferales-atacan-ganado-cotopaxi.html>.

Mancomunidad de la Cuenca del Río Jubones. (2005). *GAD Santa Isabel*. Obtenido de <https://web.archive.org/web/20070514112350/http://www.cuencadeljubones.gov.ec/municipios.aspx?menu=isabel>

Mendez, G., Mota, E., Beatriz Arellano, J. M., y Díaz, E. (1999). Seguimiento De Un Brote De Brucella Canis En Un Criadero De Perros En La Ciudad De Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 37(3), 43-50. Obtenido de https://redib.org/Record/oai_articulo1204199-seguimiento-de-un-brote-de-brucella-canis-en-un-criadero-de-perros-en-la-ciudad-de-mexico

Miceli, G., Pérez, m., Peralta, L., y Mórtola, E. (2019). Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en perros en contacto con zona rural. Aspectos zoonóticos de la infección. *Analecta Veterinaria*, 39(2), 8-14. Obtenido de <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi9g4KarP7uAhUQIFkKHfWbCsoQFjAFegQIFBAD&url=https%3A%2F%2Frevistas.unlp.edu.ar%2Fanalecta%2Farticle%2Fdownload%2F7309%2F7996%2F&usg=AOvVaw3OrPp4oMiThsPQqwHsr-QB> PAG.9

MINISTERIO DE SALUD DE LA NACION. (2013). Brucelosis. *Guía para el equipo de salud*. Obtenido de <https://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000000525cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>

Molina, E., Mera, E., Beltrán, C., Armas, J., Cueva, N., Lascano, P., y Arcos, C. (2017). Prevalencia de Brucelosis en perros que consumen desechos provenientes de camales de bovinos en Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 1, 1-6. Obtenido de <http://www.revistaecuadorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/47/44>

Moriyón, I., & López, G. (2002). Taxonomía, estructura antigénica y características genéticas de *Brucella melitensis* y *Brucella ovis*. *Ovis*, 82, 55-71. Obtenido de <https://ddd.uab.cat/record/200991>

Once, J. (2015). *Elaboración de un documental sobre la cultura del cantón Paute con el título "Paute, Pueblo de la Yaguana"* (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica Salesiana.Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/10589/1/UPS-CT005482.pdf>

- Organización Mundial de la Sanidad Animal. (2019). *Brucelosis*. Obtenido de <https://www.oie.int/es/bienestar-animal/el-bienestar-animal-de-un-vistazo/>
- Ortega-Pacheco, A. (2001). La sobrepoblación canina: un problema con repercusiones potenciales para la salud humana. *Rev Biomed*, 12, 290-291. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2001/bio014k.pdf>
- Quintero, G., Calderón, A., Rodrigue, V., Barrios, C., Yasnot, M., y Villadiego, M. (2014). DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS PARA *Brucella abortus* EN TRABAJADORES DE UN FRIGORÍFICO Y ORDENADORES EN MONTERÍA, CÓRDOBA (COLOMBIA). *Revista U.D.C.A. Actualidad y División Científica*, 17(2), 333-340. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a04.pdf>
- Ramirez, F. D. (2016). *Enfermedades en Perros y Gatos*. Colombia: Grupo Latino Editores.
- Rivers, R., Andrews, E., Gonzales-Smith, A., Donoso, G., y Oñate, A. (2006). *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 38(1), 7-18. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2006000100002&script=sci_arttext#1
- Sánchez-Jiménez, M., Giraldo-Echeverri, C., y Olivera-Angel, M. (2013). Infección por *Brucella canis* en humanos: propuesta de un modelo teórico de infección a través de la ruta oral. *Infectio*, 17(4), 193-200. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939213707318?via%3Dihub>
- Tique, V., y Marco Gonzalez, S. M. (2009). Seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba. *Revista U.D.C.A. Actualidad y Divulgación Científica*,

12(2), 51-59. Obtenido de
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262009000200006

Tuемmers, C., Lüders, C., Rojas, C., Serri, M., Castillo, C., y Espinoza, R. (2013). Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. *Revista Chilena de Infectología*, 30(4), 395-401. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000400007

UNIDAD GESTION ANIMAL - GAD CUENCA. (2020). *Guía de Tenencia y Convivencia Responsable de Mascotas*. Cuenca: Comision de Gestion Ambiental - GAD Cuenca. Obtenido de http://cga.cuenca.gob.ec/sites/default/files/Guia%20de%20Mascotas_0.pdf

7. Apéndice/Anexos

Tabla 4. *Resultados de pools*

Densidad Óptica de cada pool	
4B	0,285
4C	0,283
4D	0,167
4E	0,172
4F	0,116
4G	0,216
4H	0,318
5A	0,144
5B	0,284
5C	0,140
5D	0,141
5E	0,134
5F	0,079
5G	0,136
5H	0,123
6A	0,305
6B	0,125
6C	0,160

Tabla 5. Código de pools y paciente. Perteneciente al cantón Santa Isabel

	Número de pool	Código de pacientes
5C	CS1	CS001-CS002-CS009-CS010-CS011-CS12-CS13-CS014-CS016-CS017
5D	CS2	CS018-CS019-CS020-CS022-CS023-CS024-CS025-CS026-CS027-CS029
5E	CS3	CS030-CS031-CS032-CS033-CS036-CS037-CS038-CS039-CS040-CS041
5F	CS4	CS043-CS044-CS045-CS046-CS047-CS048-CS050-CS051-CS055-CS056
5G	CS5	CS057-CS058-CS060-CS061-CS069-CS070-CS071-CS072-CS074-CS078
5H	CS6	CS079-CS081-CS082-CS083-CS085-CS086-CS087-CS088-CS089-CS091
6A	CS7	CS092-CS093-CS094-CS098-CS099-CS100-CS101-CS102-CS103-CS104
6B	CS8	CS105-CS106-CS108-CS110-CS111-CS113-CS114-CS115-CS116-CS117
6C	CS9	CS118-CS119-CS121-CS127

Tabla 6. Código de pools y paciente. Perteneciente al cantón Santa Isabel

	Número de pool	Código de pacientes
4B	CP1	CP001-CP002-CP003-CP006-CP007-CP008-CP009-CP010-CP011-CP013
4C	CP2	CP014-CP015-CP016-CP018-CP020-CP021-CP022-CP023-CP024-CP025
4D	CP3	CP026-CP027-CP028-CP029-CP031-CP032-CP033-CP035-CP037-CP039
4E	CP4	CP040-CP041-CP042-CP043-CP045-CP046-CP047-CP048-CP049-CP050
4F	CP5	CP054-CP055-CP056-CP059-CP061-CP062-CP063-CP066-CP067-CP068
4G	CP6	CP069-CP070-CP072-CP073-CP074-CP081-CP082-CP083-CP086-CP087
4H	CP7	CP088-CP091-CP094-CP096-CP097-CP098-CP099-CP101-CP102-CP103
5 ^a	CP8	CP104-CP105-CP106-CP107-CP108-CP109-CP111-CP112-CP113-CP115
5B	CP9	CP116-CP117-CP118-CP119-CP120-CP121

Imagen 1. Suero de cada paciente



Imagen 2. Prueba de ELISA

ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species				REF	BRUS-MS-SP	LOT	E03
				1014			10/2020
Coated Microplate	Microplaque sensibilisée	Recochtes mikrotiterplatten	Microplaca sensibilizada	5 x (12x8)	590-00		
Positive control	Contrôle positif	Positivkontrolle	Control positivo	1 x 1 mL	390-00		
Negative control	Contrôle négatif	Negativkontrolle	Control negativo	1 x 1 mL	39-005		
Dilution buffer 2	Tampon de dilution 2	Verdünnungsmittel 2	Diluyente 2	2 x 60 mL	2-201		
Conjugate 10X	Conjugué 10X	Konjugat 10X	Conjugado 10X	1 x 6 mL	490-10		
Dilution buffer 3	Tampon de dilution 3	Verdünnungsmittel 3	Diluyente 3	1 x 60 mL	3-101		
Wash solution 20X	Solution de lavage 20X	Waschlösung 20X	Solución de lavado 20X	1 x 60 mL	15-105		
Substrate solution	Solution de révélation	Substratlösung	Solución de revelación	1 x 60 mL	7-101		
Stop solution	Solutif d'arrêt	Stopplösung	Solución de parada	1 x 60 mL	10-105		

ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species	
EN	Indirect ELISA for the detection of antibodies against <i>Brucella abortus</i> , <i>melitensis</i> and <i>suis</i> in serum plasma (individual samples or pools of up to 10)
FR	ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés contre <i>Brucella abortus</i> , <i>melitensis</i> et <i>suis</i> dans le sérum ou le plasma (échantillons individuels ou mélanges de 10 maximum)
DE	Indirekter ELISA Test zum Nachweis von Antikörpern gegen <i>Brucella abortus</i> , <i>B. melitensis</i> und <i>B. suis</i> in Serum oder Plasma von Rindern, Schafen, Ziegen und Schweinen. Einzelproben oder Pools von bis zu 10 Proben. Zul.-Nr. FLI-B
ES	ELISA indirecto para la detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> , <i>melitensis</i> y <i>suis</i> en suero plasma (muestras individuales o mezclas de 10)

Imagen 3. Preparación de pools



Imagen 4. Pools elaborados



Imagen 5 Lector de pools procesados



Imagen 6. Resultados

	1	2	3	4	5	6
A	001 0.098	009 0.099	017 0.103	025 0.108	033 0.144	041 0.305
B	002 0.129	010 0.130	018 0.138	026 0.285	034 0.284	042 0.125
C	003 1.241	011 0.187	019 0.141	027 0.283	035 0.140	043 0.160
D	004 1.060	012 0.174	020 0.135	028 0.167	036 0.141	
E	005 0.123	013 0.116	021 0.132	029 0.172	037 0.134	
F	006 0.116	014 0.135	022 0.133	030 0.116	038 0.079	
G	007 0.156	015 0.198	023 0.157	031 0.216	039 0.136	
H	008 0.148	016 0.173	024 0.152	032 0.318	040 0.123	

7-12>> Enviar Resultado Imprimir Salir