UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PREVALENCIA DE LEISHMANIASIS CANINA (*LEISHMANIA INFANTUM*) EN CANINOS (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA

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

AUTOR: JORDY SEBASTIÁN AYORA ASPIAZU

TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, MSc.

Cuenca - Ecuador

2025

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jordy Sebastián Ayora Aspiazu con documento de identificación N° 1250978812 manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 24 de febrero del 2025

Atentamente,

Jordy Sebastián Ayora Aspiazu
1250978812

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Yo, Jordy Sebastián Ayora Aspiazu con documento de identificación N° 1250978812, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo experimental: "Prevalencia de Leishmaniasis canina (*Leishmania infantum*) en caninos (*Canis lupus familiaris*) mediante la técnica de ELISA indirecta", el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médico Veterinario, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 24 de febrero del 2025

Atentamente,

Jordy Sebastián Ayora Aspiazu
1250978812

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mauricio Xavier salas Rueda con documento de identificación N° 0603329681, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: PREVALENCIA DE LEISHMANIASIS CANINA (*LEISHMANIA INFANTUM*) EN CANINOS (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA, realizado por Jordy Sebastián Ayora Aspiazu con documento de identificación N° 1250978812, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 24 de febrero del 2025

Atentamente,

Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, MSc.

0603329681

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Patricio Ayora y Betzaida Aspiazu cuyo amor, sacrificio y apoyo incondicional me han permitido llegar hasta aquí. A ellos, que me han guiado con sabiduría y paciencia, y que me han enseñado el verdadero significado de la perseverancia.

A mi familia, por ser el pilar que me ha sostenido en los momentos de incertidumbre y cansancio. Su fe en mí ha sido mi mayor motivación.

Y a mis compañeros de clase, con quienes he compartido este largo y hermoso camino académico. Juntos enfrentamos retos, celebramos logros, disfrutamos y creamos recuerdos que perdurarán para siempre a pesar del tiempo.

AGRADECIMIENTO

Quiero dedicar este trabajo a todas las personas que me han acompañado en este viaje académico, brindándome su apoyo incondicional y cariño.

A mis padres, quienes han sido mi mayor fuente de inspiración y fortaleza. Gracias por su amor, comprensión y por siempre estar ahí, en cada paso de este camino. Su confianza en mí ha sido el motor que me impulsó a superar cada obstáculo y alcanzar esta meta.

A mi hermana quien, junto con mi familia, que me ha rodeado de cariño y apoyo en todo momento. A ustedes, por creer en mí y alentarme a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles.

A mis compañeros de clase, con quienes compartí experiencias, aprendizajes y risas a lo largo de estos años. Gracias por ser un equipo de apoyo, por las largas horas de estudio y por haber hecho de esta etapa una experiencia inolvidable.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN 14

ABSTRACT 15

1. INTRODUCCIÓN 16

1.1. Problema 16

1.2. Delimitación 17

1.2.1. Delimitación espacial 17

1.2.2. Delimitación temporal 18

1.2.3. Delimitación académica 18

1.3. Explicación del problema 18

1.4. Objetivos 19

1.4.1. Objetivo general 19

1.4.2. Objetivos específicos 19

1.5. Hipótesis 19

1.5.1. Hipótesis alternativa 19

1.5.2. Hipótesis nula 19

1.6. Fundamentación teórica 19

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL 20

2.1. Leishmaniasis canina 20

2.1.1. Etiología 20

2.1.2. Ciclo biológico 20

2.1.3. Patogenia 22

2.1.4. Signos clínicos 22

2.2. Epidemiología 24

2.2.1. Epidemiología en el Ecuador 24
2.2.2. Reservorios 25
2.2.3. Factores de riesgo asociados 25
2.2.4. Control y Prevención 26
2.2.5. Vigilancia sanitaria 26
2.3. Métodos de diagnóstico 27
2.3.1. Muestras invasivas y no invasivas 27
2.3.2. Citología 27
2.3.3. Xenodiagnóstico 28
2.3.4. Prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) 28
2.3.5. Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) 29
2.3.6. Técnica de inmunoadsorción enzimática (ELISA) 29
2.3.7. Kits rápidos 36
2.4. Resumen del estado del arte del estudio del problema 36
3. MATERIALES Y MÉTODOS 38
3.1. Materiales 38
3.1.1. Materiales físicos 38
3.1.2. Materiales biológicos 39
3.2. Diseño 39
3.3. Población y muestra 40
3.3.1. Procedimiento 40
3.4. Estadística 41
3.5. Operacionalización de variables 42
3.5.1. Variable dependiente 42

3.5.2. Variable independiente 42
3.6. Consideraciones éticas 43
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 44
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 63
6. BIBLIOGRAFÍA 65
7. APÉNDICE/ANEXOS 77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de oficina 38

Tabla 2. Materiales de campo 38

Tabla 3. Materiales de laboratorio 39

Tabla 4. Materiales biológicos 39

Tabla 5. Variable dependiente: presencia de Leishmania infantum 42

Tabla 6. Variable independiente: ubicación geográfica 42

Tabla 7. Prevalencia total de Leishmania infantum en la Costa Ecuatoriana 44

Tabla 8. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la provincia ... 45

Tabla 9. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la provincia. 45

Tabla 10. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la provincia 46

Tabla 11. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el origen 47

Tabla 12. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el origen.... 47

Tabla 13. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el origen 48

Tabla 14. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la edad 49

Tabla 15. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la edad 49

Tabla 16. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la edad 50

Tabla 17. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la raza 51

Tabla 18. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la raza 52

Tabla 19. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la raza 53

Tabla 20. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el sexo 54

Tabla 21. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el sexo 54

Tabla 22. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el sexo 55

Tabla 23. Prevalencia de casos dudosos según el estadio reproductivo 55

Tabla 24. Prevalencia de casos negativos según el estadio reproductivo 56

Tabla 25. Prevalencia de casos positivos según el estadio reproductivo 56

Tabla 26. Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el peso 57

Tabla 27. Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el peso 58

Tabla 28. Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el peso 58

Tabla 29. Prevalencia de casos dudosos según la presencia del vector 59

Tabla 30. Prevalencia de casos negativos según la presencia del vector 60

Tabla 31. Prevalencia de casos positivos según la presencia del vector 60

Tabla 32. Prevalencia de casos dudosos según el diagnóstico previo 61

Tabla 33. Prevalencia de casos negativos según el diagnóstico previo 61

Tabla 34. Prevalencia de casos positivos según el diagnóstico previo 62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ciclo biológico de Leishmania infantum 21

Figura 2 Prueba de ELISA 31

Figura 3 ELISA Indirecto 32

Figura 4 Procedimiento prueba ELISA indirecta 34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Posición de las mestras en la placa 77

Anexo 2 Lectura de la densidad óptica de la placa 1 en el espectrofotómetro..... 78

Anexo 3 Lectura de la densidad óptica de la placa 2 en el espectrofotómetro..... 78

Anexo 4 Resultados de la placa 1 79

Anexo 5 Resultados de la placa 2 79

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en las siete provincias que componen la región costa del Ecuador, específicamente en los cantones, Quevedo, Guayaquil, Bahía de Caráquez, Marcabelí, La Concordia, Esmeraldas y Salinas; se procedió a trabajar con 184 muestras obtenidas de caninos basado en factores como su procedencia, edad, sexo y diagnóstico previo de otras patologías. En cada canino se colectó una muestra de sangre obtenida de diferentes accesos venosos, las mismas fueron reposadas por 15 minutos con el propósito de que exista una separación heterogénea entre plasma y sangre, posteriormente se centrifugó y se extrajo el suero obtenido. Se continuó en los laboratorios de Ciencia de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana para el análisis de cada una de ellas a través del lector de ELISA en donde se identificó y obtuvo el 97.83% (180/184) de casos seronegativos, el 0.54 % (1/184) seropositivos y el 1.63% (3/184) casos dudosos que posteriormente puedan desarrollar esta enfermedad.

ABSTRACT

The research work was carried out in the seven provinces that make up the coastal region of Ecuador, specifically in the cantons, Quevedo, Guayaquil, Bahía de Caráquez, Marcabelí, La Concordia, Esmeraldas and Salinas; We proceeded to work with 184 samples obtained from canines based on factors such as their origin, age, sex, and previous diagnosis of other pathologies. A blood sample obtained from different venous accesses was collected from each canine. They were rested for 15 minutes so that there was a heterogeneous separation between plasma and blood. Subsequently, it was centrifuged and the serum obtained was extracted. It continued in the Life Science laboratories of the Salesian Polytechnic University for the analysis of each of them through the ELISA reader where 97.83% (180/184) of seronegative cases were identified and obtained, 0.54% (1/184) seropositive and 1.63% (3/184) doubtful cases that may later develop this disease.

1. INTRODUCCIÓN

La leishmaniosis canina es una enfermedad causada por el parásito protozoario *Leishmania infantum,* cuyo impacto en la salud de los perros, así como el alto potencial zoonótico, la convierten en un asunto de suma importancia en las esferas científicas. En cuanto al medio de transmisión, el organismo encargado es el flebótomo hembra, pues contagia a humanos y animales por medio de su picadura. En este caso, los perros actúas como reservorio primario y huésped natural, y sus manifestaciones varían desde una infección crónica subclínica hasta una enfermedad fatal (Hernández, 2016).

Sin duda, constituye un tema de gran preocupación para la salud pública y en el ámbito de la veterinaria a nivel mundial; por supuesto, Ecuador no es la excepción, sobre todo en la Costa. Pese a la importancia de implementar estrategias de control y prevención efectivas, hasta el momento no existen datos actualizados sobre la prevalencia de la enfermedad en esta región, hecho que impulsa a abordar la problemática de manera profunda con el afán de plantear soluciones efectivas a corto y largo plazo. En ese sentido, una herramienta de diagnóstico eficaz es la técnica de ELISA indirecta, la cual permite realizar un estudio exhaustivo y preciso sobre la presencia de *Leishmania infantum* en la población canina (Proaño, 2023)

De ese modo, la investigación de la enfermedad se encamina a contribuir a un mejor entendimiento sobre la epidemiología en la región y proporcionar información valiosa para el diseño de políticas de salud pública y animal y medidas adecuadas de control.

1.1. Problema

La Costa es una región cuyos factores ambientales fomentan la propagación de los vectores transmisores de leishmaniasis, como son los flebótomos del género *Lutzomyia* (Guiscasho, 2013). A ello se suma que los perros infectados fungen como reservorio de la enfermedad, lo que incrementa significativamente el riesgo de contagio en los humanos con los que interactúan.

He ahí la imperante necesidad de llevar a cabo un estudio epidemiológico que brinde luces sobre la situación actual de leishmaniasis en la región. En ese sentido, por medio de la aplicación de la técnica ELISA indirecta se pueden obtener datos útiles sobre la distribución geográfica de la enfermedad, la prevalencia en la población canina y los factores de riesgo relacionados, información clave para el desarrollo de estrategias de control y prevención efectivas.

1.2. Delimitación

1.2.1. Delimitación espacial

La investigación se llevó a cabo en un cantón de cada provincia:

- Quevedo (Los Ríos): su extensión territorial es de 53.1 km^2. Está ubicado a 74 m s.n.m., en las coordenadas O79°27'48.67" y con una latitud S1°1'43.07".
- Guayaquil (Guayas): con una extensión de 354.48 km^2, se encuentra a 4 m s.n.m., exactamente en las coordenadas 2°11′24″S 79°53′15″O.
- Bahía de Caráquez (Manabí): está a 15 m s.n.m., a una longitud de O80°25'25.21" y latitud de S0°35'52.51".
- La Concordia (Santo Domingo de los Tsáchilas): se extiende sobre un territorio de 6.3 km^2, a 217 m s.n.m. y sus coordenadas son 0°00′25″N 79°23′45″O.
- Marcabelí (El Oro): se extiende en un territorio de 148 km^2, a 540 m s.n.m., y sus coordenadas son 3°47′10″S 79°53′52″O.
- Esmeraldas: el cantón ocupa 1351 km^2 a 100 m s.n.m. Las coordenadas exactas son 1°03′N 79°12′O.
- Salinas: Ubicado en la península de santa Elena, el cantón Salinas tiene una superficie total de 97 km^2, posee una altitud de 1m s.n.m. Y sus coordenadas son 2°13′00″S 80°57′00″O.

1.2.2. Delimitación temporal

El estudio se realizó en el lapso de 400 horas, las cuales involucraron a todo el proceso experimental y la redacción del presente documento.

1.2.3. Delimitación académica

Por su naturaleza, la investigación se enmarcó en el ámbito de la sanidad animal y la salud pública. El propósito consistió en presentar nuevos conocimientos que aporten al campo de la epidemiología.

1.3. Explicación del problema

El diagnóstico de *Leishmania infantum* es complejo debido a que entran en juego varios factores: periodo de incubación, coinfecciones, variabilidad clínica, síntomas similares a otras enfermedades y su desestimación frente a otras patologías (Gómez y Cañarte, 2022). Este panorama da paso a que los casos de infección aumenten y se torne en un problema de salud pública y animal.

Además, en Ecuador, la insalubridad propia de la Costa, los factores ambientales —clima cálido y húmedo — y la actividad ganadera inherente a los sectores rurales representan la fuente principal de alimento para los flebótomos. En otras palabras, son los detonantes de *Leishmania infantum*, que en la actualidad evidencia un índice de prevalencia que va en aumento. De ahí la necesidad de contar con una detección oportuna en las primeras etapas de la enfermedad, hecho que asegura que el tratamiento sea más efectivo y se mejore el pronóstico de vida del canino.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar la prevalencia de *Leishmania infantum* en caninos (*Canis lupus familiaris*) a través de la técnica de ELISA indirecta aplicada en muestras tomadas en Quevedo, Guayaquil, Bahía de Caráquez, La Concordia, Marcabelí y Esmeraldas.

1.4.2. Objetivos específicos

- Detectar anticuerpos dirigidos contra *Leishmania infantum* en suero sanguíneo de caninos en la Costa ecuatoriana mediante la técnica de ELISA indirecta.
- Determinar la prevalencia de *Leishmania infantum* en caninos de diversas edades, sexo, raza y hábitat.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis alternativa

La prevalencia de *Leishmania infantum* es alta en caninos de la Costa de Ecuador

1.5.2. Hipótesis nula

La prevalencia de *Leishmania infantum* es baja en caninos de la Costa de Ecuador.

1.6. Fundamentación teórica

Como quedó claro en líneas anteriores, son escasas las investigaciones sobre el tema, por lo que el trabajo experimental aportó con un método de diagnóstico confiable de *Leishmania infantum* en los seis cantones. La premisa de este y futuros estudios debe enfocarse en proporcionar mayor conocimiento para el diagnóstico efectivo y los tratamientos propicios sobre esta patología.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Leishmaniasis canina

2.1.1. Etiología

La leishmaniasis es causada por protozoos difásicos del género *Leishmania* pertenecientes a la clase kinetoplastea de la familia Trypanosomatidae. Aunque existen cerca de 30 especies distintas de este organismo distribuidas en varias regiones del mundo, la mayoría que infectan a los seres humanos son zoonóticas y apenas unas cuantas son antroponóticas (se transmiten a través de las moscas). Cabe indicar que la leishmaniasis es endémica en 88 países: 66 de Europa, África y Asia, mientras que 22 corresponden a América y el Caribe (Cordero y Rojo, 2000).

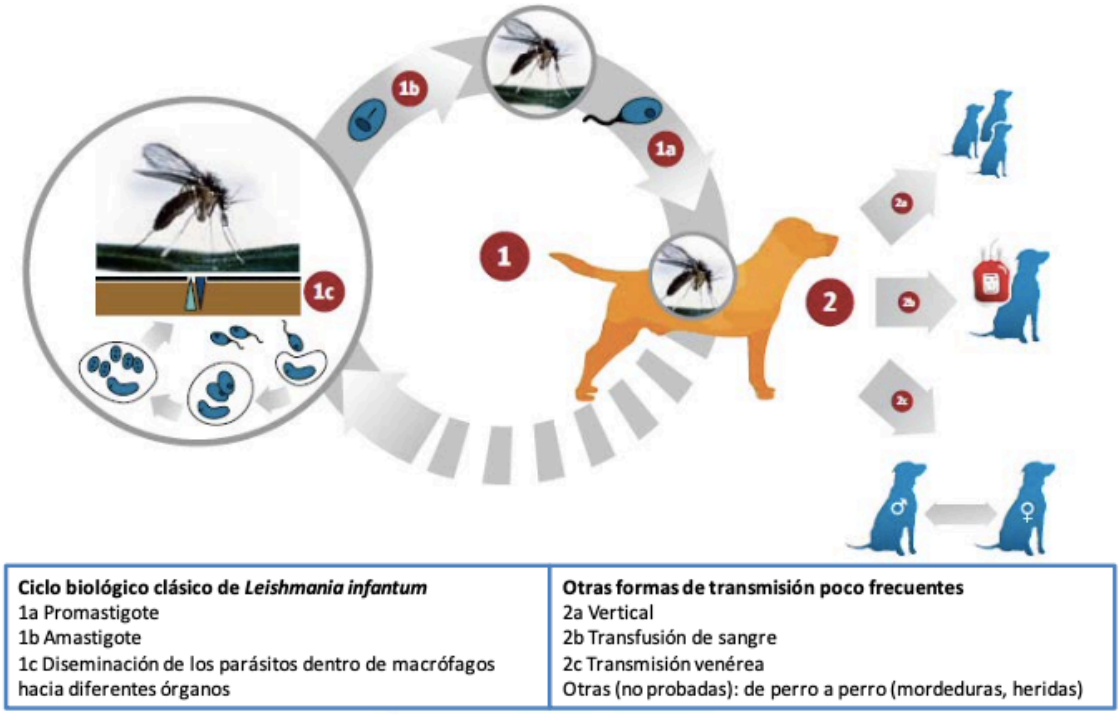
2.1.2. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *Leishmania* es asexual y heteroxeno, es decir que ocurre en dos hospedadores diferentes: el intermedio, el cual funge como vector, y el hospedador definitivo (Fig.1). Su ciclo de vida es digenético y se localiza en el tubo digestivo del hospedador invertebrado, adquiriendo una forma promastigote móvil y flagelada; sin embargo, al afectar al hospedador vertebrado adquiere una forma inmóvil y aflagelar o amastigote, localizándose principalmente en los macrófagos (Killick-Kendrick, 1984).

El proceso de infección ocurre cuando la hembra flebótomo infectada regurgita sangre en un hospedador vertebrado e inocula junto con su saliva a los promastigotes metacíclicos presentes en su probóscide. Una vez en los capilares cutáneos, los parásitos son fagocitados por los macrófagos e incluidos en una vacuola parasitófora con el fin de eliminarlos mediante la síntesis y la liberación de diversas moléculas; aquí destaca el rol leishmanicida del óxido nítrico (NO) (Holzmuller et al., 2016).

En este punto, los parásitos eluden las reacciones inmunológicas inespecíficas del macrófago para posterior de 12 a 24 horas de la inoculación convertirse en amastigotes, los cuales tienden a multiplicarse por continuas fisiones binarias (Sharma y Singh, 2008; Antoine et al., 1990). Cuando este proceso ocurre, los macrófagos infectados se lisan y liberan al parásito en forma de amastigote, que puede ser fagocitado por macrófagos o neutrófilos próximos y favorecer así su diseminación hasta alcanzar varios órganos del sistema linfohematopoyético como, entre otros, la médula ósea, los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado.

Figura 1 *Ciclo biológico de Leishmania infantum*



Ciclo biológico clásico de *Leishmania infantum*	**Otras formas de transmisión poco frecuentes**
1a Promastigote	2a Vertical
1b Amastigote	2b Transfusión de sangre
1c Diseminación de los parásitos dentro de macrófagos hacia diferentes órganos	2c Transmisión venérea
	Otras (no probadas): de perro a perro (mordeduras, heridas)

Fuente: (Solano et al., 2011)

Las células parasitadas circulantes pueden ingurgitarse mediante otros flebótomos, en cuyo aparato digestivo se liberan los amastigotes, desarrollan un flagelo y se transforman en promastigotes procíclicos en un lapso de 24 a 48 horas. Alcanzar esta capacidad infectante, proceso denominado metaciclogénesis, ocurre tras la multiplicación mediante fisión binaria longitudinal. Por último, los parásitos se encuentran en la probóscide de la hembra flebótomo

infectante, están listos para ser inoculados al nuevo hospedador vertebrado y finalizar de ese modo su ciclo biológico (Peters y Killick, 1987).

2.1.3. Patogenia

La leishmaniasis es un síndrome fruto de procesos inflamatorios que ocasionan sintomatología cutánea y visceral de manera independiente y/o simultanea (Spickler, 2022). Ahora bien, debido a que cualquier órgano o tejido puede afectarse, las manifestaciones clínicas varían significativamente; inclusive, distintos estudios evidencian presentaciones inusuales, lo que ha dado paso a concebir a este parásito como un buen imitador (Pennisi, 2015).

En cuanto a las lesiones son inmunomediadas por el agotamiento de linfocitos T que se compensa con la activación de células B y plasmáticas, histiocitos y macrófagos. Ello está asociado a la división binaria de los amastigotes en el sistema fagocítico mononuclear, lo que genera hiperglobulinemia y, en consecuencia, el desarrollo de granulomas en tejidos y órganos, aunque mayormente suelen acumularse en los riñones y ojos (Fernández y Almeida, 2012).

2.1.4. Signos clínicos

Son diversos los tipos de respuesta inmune en caninos infectados por *Leishmania* spp., así como varias las manifestaciones clínicas descritas, aunque hay dos que destacan: leishmaniasis visceral canina (LVC) y leishmaniasis cutánea canina (LCC). Cabe aclarar que además se consideran tres panoramas que corresponden a una infección subclínica, enfermedad autolimitante y enfermedad severa imposible de controlar (Rivero, 2016).

Acero et al. (2015) hacen hincapié en que los signos clínicos y el pronóstico dependen de la cepa que haya infectado al can, la cual puede ser cutánea (*L. panamensis, L. braziliensis*) o visceral (*L. infantum*). Además, ningún animal está exento de contraerla independientemente de la raza, la edad y el sexo.

2.1.4.1. Leishmaniasis visceral canina (LVC)

Los perros infectados por L. infantum son proclives a desarrollar leishmaniasis visceral, enfermedad fatal caracterizada por linfoadenomegalia, atrofia muscular, ulceras en la piel, baja de peso, anorexia, onicogrifosis, esplenomegalia, poliuria, polidipsia, entre otros (Rivero, 2016). Hay que tomar en cuenta también que la presencia de una falla renal crónica implica que la enfermedad está progresando y puede desembocar en el fallecimiento del animal. En efecto, Acero et al. (2015) resaltan que la enfermedad renal puede presentarse inicialmente como glomerulonefritis (asociada a depósito de complejos inmunes), nefritis intersticial, síndrome nefrótico y progresar hacia una insuficiencia.

2.1.4.2. Leishmaniasis cutánea canina (LCC)

Aunque es documentada en menor medida que la LVC, existen reportes de esta forma clínica en caninos. Se evidencia por medio de ulceras y otras lesiones cutáneas —similares a la de los humanos — causadas por diferentes especies de *Leishmania*, mayormente del subgénero *Viannia*. Algunas especies que ocasionan LVC son *L. (Viannia) panamensis*, *L. (Viannia) guyanensis, L. (Viannia) peruviana y L. (Viannia) braziliensis,* esta última presente en Suramérica y cuyas manifestaciones se caracterizan por lesiones en la piel que inician ante la formación de un nódulo en la zona de la picadura y que progresivamente aumenta el tamaño hasta ulcerarse. No obstante, las lesiones también pueden surgir como placas en la nariz, los oídos y la región perineal, las cuales son zonas con menor pelo (Rivero, 2016).

Ahora bien, el estudio de Makino et al. (2020) corrobora que los principales signos dermatológicos son alopecia, descamación, prurito y onicogrifosis, mientras que Ortega et al. (2019) resaltan que las lesiones cutáneas tienen forma redonda, ulcerada y eritematosa. Estas se asocian a la multiplicación de amastigotes en el interior de los macrófagos y otras células del sistema fagocítico mononuclear.

2.2. Epidemiología

2.2.1. Epidemiología en el Ecuador

En Ecuador, la leishmaniasis tiene una diseminación significativa en 23 de las 24 provincias; la única excepción es Galápagos. La incidencia es tal que se estima que alrededor de 3,5 millones de personas están en situación de riesgo, con mayor prevalencia registrada en Santo Domingo, Esmeraldas y Pichincha. Inclusive, datos de un estudio retrospectivo evidencian que entre 2009 y 2015 el 20,1 % de casos están aglutinados en el noroccidente de Pichincha, zona que registra el mayor índice de riesgo de contraer la enfermedad (Borja et al., 2017).

Lamentablemente, en el país hay poco conocimiento de la leishmaniasis debido a la falta de una eficiente técnica de diagnóstico, el costo que ello implica y/o por la carencia de laboratorios y personal capacitado. A ello se suma que las autoridades no socializan los riesgos debido a que es obligatorio cuando afecta directamente a los seres humanos. Esta postura deja a entrever la falta de interés por la salud animal, puesto que los caninos son el principal reservorio de *Leishmania* spp. y, por consiguiente, debería ser obligatorio declarar esta enfermedad en ellos para contar con un histórico de la cantidad de casos y los signos clínicos, lo que sería de gran aporte para lograr mejores diagnósticos (Vargas, 2021)

Las cifras no son nada alentadoras. El estudio de Ushiña et al. (2016), por ejemplo, indica que el Ministerio de Salud Pública del Ecuador, mediante la Dirección de Vigilancia Epidemiológica, reportó una tasa de 5,83 % de casos por cada 100000 habitantes, con más prevalencia en Santo Domingo, Napo y Orellana.

2.2.2. Reservorios

Si bien varias especies animales fungen como reservorio de leishmaniasis, destacan en mayor medida el perro y el gato. Ambos presentan sintomatología distinta que varía en función de la respuesta inmunitaria y de la especie de *Leishmania* infectante; inclusive, cualquier caso puede desembocar hacia una enfermedad subclínica (Rodríguez, 2019).

La leishmaniasis canina también se ha identificado en países donde la enfermedad no es endémica. Esto ocurre debido al movimiento internacional de turistas e inmigrantes que introducen mascotas infectadas, así como a la importación de perros. En muchos casos, estos animales actúan como portadores asintomáticos de agentes infecciosos transmisibles a través de los flebótomos, lo que permite que la infección permanezca oculta durante períodos prolongados. (Ackerman, 2008).

2.2.3. Factores de riesgo asociados

Es posible resaltar cuatro factores principales de riesgo en los perros. En primera instancia, el lugar de pernoctación, pues los estudios suelen coincidir en que las áreas abiertas configuran un potencial de infección. Por otro lado, juega un rol importante el peso corporal y el tamaño, dado que el flebótomo tiene más superficie para picar. Asimismo, se debe considerar la raza, aunque en términos generales todas son susceptibles a desarrollar la enfermedad. Finalmente, tiene un gran impacto la frecuencia de contacto con fauna silvestre, puesto que los perros suelen ser empleados como cazadores y guardianes, especialmente en zonas rurales, lo que incrementa su exposición a los microhábitats de los flebótomos (Alonso et al., 2010).

2.2.4. Control y Prevención

El control de este organismo tiene que enmarcarse en términos ecológicos, en el sentido de que ha de actuarse sobre su hábitat para anular las condiciones ambientales favorables para su reproducción: humedad, abundancia de floresta, acúmulos de materia orgánicas, por nombrar algunos. Hasta el momento, los insecticidas constituyen el principal recurso para su eliminación; entonces, por ejemplo, puede aprovecharse el invierno, época en la que el parásito se aloja en los establos, gallineros y entre otros lugares para aplicar medidas apropiadas de desinsectación (Medleau y Hnilica, 2007).

Ciertamente, otra opción es acudir a técnicas de irradiación en los machos para tornarlos infecundos, las cuales son ya utilizadas en algunas plagas de frutales. Por supuesto, independientemente de la normativa profiláctica, las campañas de lucha contra la leishmaniasis deben complementarse con educación sanitaria, sobre todo en zonas rurales y en centros de educación primaria (Cousiño, 2006).

2.2.5. Vigilancia sanitaria

La leishmaniasis tiene mayor prevalencia en la Costa y Amazonía de Ecuador, en aquellas zonas desde los 300 m s.n.m. en adelante, así como en los valles andinos de la Sierra localizados entre los 1200 m s.n.m a 2400 m s.n.m.

Su transmisión responde a dos patrones. El primero concierne a brotes asociados a la incursión del humano en un hábitat silvestre para talar bosques, construir carreteras, hacer prácticas militares, colonizar áreas, extraer oro, recolectar de café, entre otros. El segundo caso consiste en el contagio por asentamientos urbanos, pues los vectores y reservorios se acercan a los domicilios rodeados de flores; aquí, los mamíferos domésticos (perros y gatos) juegan un rol importante al actuar como reservorios (Servicio Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores Artrópodos-SNEM, 2017).

2.3. Métodos de diagnóstico

El diagnóstico parasitológico es siempre un diagnóstico de laboratorio. Para confirmar la etiología de la infección puede utilizar diferentes técnicas y métodos de diagnóstico de laboratorio directos e indirectos: parasitológicos, moleculares y serológicos. (Morales, 2022)

2.3.1. Muestras invasivas y no invasivas

En torno a las pruebas directas de diagnóstico se han evaluado métodos invasivos (sangre periférica, biopsias de piel, aspirados de medula ósea, bazo y linfonódulos) y no invasivos (orina, pelo e hisopado vulvar, conjuntival, auricular y oral). Sin embargo, hasta el momento no ha podido determinarse un *gold standard* para la recolección eficiente de datos epidemiológicos (Geisweid et al., 2013; Galluzzi et al., 2018).

De los métodos invasivos, el de menor impacto es la muestra de sangre, aunque en estudios moleculares carece de especificidad (Lombardo et al, 2012). Al contrario, las muestras no invasivas presentan mejores resultados en el cerumen, con una especificidad del 90,9 %, y en la conjuntiva la sensibilidad asciende a poco más de 78 % y con una especificidad del 93 % en mezclas de poblaciones caninas clínicamente enfermas y asintomáticas (Belinchón et al., 2016; Geisweid et al., 2013).

2.3.2. Citología

La citología es una prueba diagnóstica concluyente y simple que puede emplearse en las clínicas veterinarias debido a su bajo costo, el poco instrumental requerido, la brevedad en la obtención de resultados y la elevada especificidad, sobre todo en canes con signos clínicos (Saridomichelakis, 2009). El proceso consiste en la observación microscópica directa de amastigotes de *Leishmania* en extensiones del material aspirado, principalmente LN, MO o piel, que son teñidas mediante métodos metacromáticos convencionales: Giemsa, May-Grunwald y Diff-Quick (Maia y Campino, 2008).

Los amastigotes se observan al interior del citoplasma de monocitos, neutrófilos y, principalmente, macrófagos, o de forma libre, como cuerpos ovalados que tienen de dos a cuatro micras de diámetro. Ahora bien, la sensibilidad de la técnica radica en la experiencia del observador, la calidad del frotis, la cantidad de campos visuales examinados y la carga parasitaria; además, en canes con infección subclínica no es recomendable aplicarla debido a la baja sensibilidad (Otranto et al., 2009).

2.3.3. Xenodiagnóstico

Este método consiste en detectar y aislar el patógeno a partir de flebótomos alimentados sobre el hospedador objeto de estudio. También, con fines experimentales, permite evaluar la infectividad de aislados de *Leishmania*, así como la capacidad infectante de canes enfermos que han sido intervenidos con distintos fármacos (Molina et al., 2006).

El perro, previamente sedado, se expone a la picadura del flebótomo durante una hora con miras a evidenciar la presencia de promastigotes en el tubo digestivo del insecto mediante microscopio, aunque también pueden emplearse técnicas moleculares para corroborar la presencia de ADN de *Leishmania* (Gramiccia et al., 2010). Para este proceso, en Europa se utilizan especies del género *Phlebotomus*, sobre todo *P. perniciosus*, mientras que en Sudamérica suele emplearse el vector natural *L. longipalpis* (Bongiorno et al., 2013).

2.3.4. Prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es utilizada para detectar el ADN de *Leishmania* en tejidos, lo que da lugar a un diagnóstico sensible y específico incluso antes de la seroconversión. El proceso implica la amplificación in vitro de una secuencia especifica de nucleótidos del ADN extraídos de muestras biológicas, para lo cual son usadas secuencias de oligonucleótidos (cebadores o primers), pues se unen al ADN que flanquea una región de interés o secuencia diana. A partir de una molécula de ADN de doble cadena se obtienen cerca de 109 copias tras 30 ciclos de

amplificación, y el producto obtenido de la PCR puede visualizarse por electroforesis en gel de agarosa y la posterior tinción con bromuro de etidio o hibridación con sonda marcada (Coura et al., 2011).

2.3.5. Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La IFI alcanza una sensibilidad entre el 90 % al 92 % en perros sintomáticos, pero apenas es del 29 % al 73 % en animales asintomáticos. Al emplearse como antígeno a los promastigotes, deben fijarse con acetona fría a la lámina portaobjeto y colocar diferentes diluciones de los sueros a evaluar. La reacción antígeno-anticuerpo se visualiza ante la adición de una inmunoglobulina marcada con isotiocianato de fluoresceína, lo que da lugar a una reacción fosforescente de color verde que puede visualizarse por medio de un microscopio de inmunofluorescencia e iluminación UV (Jaramillo y Martínez, 2010).

Hay que considerar que el título de corte estándar es 1/40 y, por lo tanto, aquellos sueros con fluorescencia a esa dilución o superior son considerados positivos. Un dato adicional para tener presente es que ante resultados dudosos debe realizarse un nuevo análisis entre los 45 a 60 días posteriores con la finalidad de corroborar si ha ocurrido la seroconversión (Jaramillo y Martínez, 2010).

2.3.6. Técnica de inmunoadsorción enzimática (ELISA)

El ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) es una técnica inmunológica ampliamente utilizada para detectar y cuantificar antígenos y anticuerpos en muestras de fluidos biológicos. Su origen data de mediados de los setenta gracias a los suecos Eva Engvall y Peter Perlmann, y su rápida aceptación se debió a que sustituyó métodos de diagnóstico costosos y peligrosos, como el radioinmunoensayo (RIA) que utilizaba materiales radiactivos. Hoy en día, el ELISA es

reconocido debido a alta sensibilidad y por su fácil aplicabilidad, lo que le convierte en uno de los instrumentos con mayor uso en biomedicina y veterinaria (Zhao et al., 2021).

Asimismo, es importante resaltar que uno de los principales beneficios es la facultad para procesar simultáneamente un gran número de muestras, puesto que solo se requieren pocas cantidades de ellas y de reactivos. El proceso para ejecutar la prueba empieza al fijar un antígeno a una superficie sólida apropiada (placa de poliestireno) para que sea reconocido por el anticuerpo primario en el suero a evaluar (Medleau y Hnilica, 2007).

Ahora bien, son varios los tipos de ELISA que pueden efectuarse. El de aplicación más sencilla es el directo, utilizado para una detección rápida, en el que el antígeno de interés es inmovilizado en una fase sólida, por ejemplo, en microplaca de poliestireno, y se añade un anticuerpo marcado con una enzima que se une directamente al antígeno (Guzmán et al., 2024).

En cambio, el método tipo sándwich es más sensible para detectar antígenos específicos y es aplicado en muestras de suero o plasma. En este formato, un anticuerpo de captura se inmoviliza en la fase sólida y atrapa al antígeno presente en la muestra. Luego, un segundo anticuerpo, conocido como de detección, se une al antígeno desde otro epítopo: si está conjugado con una enzima, puede procederse a la visualización; caso contrario, ha de añadirse un anticuerpo secundario marcado con enzima para completar la detección (Hernández et al., 2023).

Otro tipo de ELISA es el competitivo, un formato más complejo para cuantificar antígenos o haptenos, especialmente de baja masa molecular. En este ensayo, el antígeno de la muestra y otro marcado con enzima compiten por los sitios de unión de un anticuerpo inmovilizado: cuanto mayor sea la concentración de antígeno en la muestra, menos cantidad de antígeno se une al anticuerpo y, por lo tanto, la señal detectada es menor (Serrano et al., 2023).

Para tener una comprensión visual de estos tres primeros tipos de ELISA, la Figura 2 presenta una infografía:

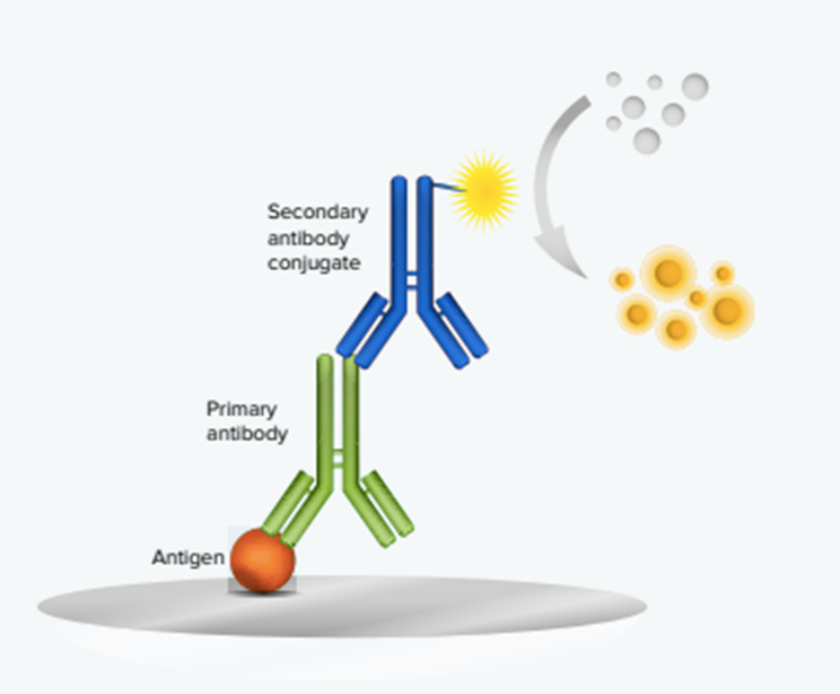
Figura 2 *Prueba de ELISA*

Fuente: (Ramírez, 2022)

2.3.6.1. ELISA indirecta

El ELISA indirecto es el método más complejo, aunque también más versátil que el directo, y es utilizado para detectar anticuerpos en muestras biológicas. En este caso, un antígeno conocido se fija a la fase sólida para luego añadir un anticuerpo primario presente en la muestra y, posteriormente, un anticuerpo secundario marcado con una enzima se une a este (Aydin, 2015). Vale destacar que una de las ventajas es la amplificación de la señal, dado que varios anticuerpos secundarios pueden unirse a un solo primario, lo que incrementa la sensibilidad del ensayo. Sin embargo, es un procedimiento que implica más pasos e incrementa la probabilidad de errores técnicos y de extender el tiempo de ejecución (Hernández, 2025) (ver Figura 3).

Figura 3 *ELISA Indirecto*



Fuente: (Molecular Devices, 2025)

Esta técnica es muy útil para investigar y diagnosticar enfermedades infecciosas debido a que permite medir la respuesta inmunitaria humoral y además es utilizada para cuantificar

hormonas e inmunoglobulinas El procedimiento parte de un tapizado de los pocillos de una placa ELISA con el antígeno a analizar, el cual se disuelve a partir de una solución tampón que se adhiere a las paredes de los pocillos por medio de los enlaces covalentes (constituyen la fase sólida del ensayo). De manera facultativa, es posible realizar un postapizado al utilizar una proteína, como la albúmina de suero bovina (BSA), que bloquea los espacios libres en los que no se han adherido el antígeno y reduce el riesgo de uniones inespecíficas de los anticuerpos a la fase sólida, responsables de falsos positivos (Xiao e Isaacs, 2012).

Tras completar el tapizado, se introduce en cada pocillo un anticuerpo primario que carece de enzima conjugada y tiene la capacidad de unirse específicamente al antígeno previamente adherido. Para asegurar la formación del complejo antígeno-anticuerpo, la placa se cubre e incuba durante una hora a 37 °C (Song, 2023).

Al finalizar este periodo, se realiza un lavado para eliminar cualquier anticuerpo primario que no haya logrado unirse al antígeno. (Aydin, 2015)

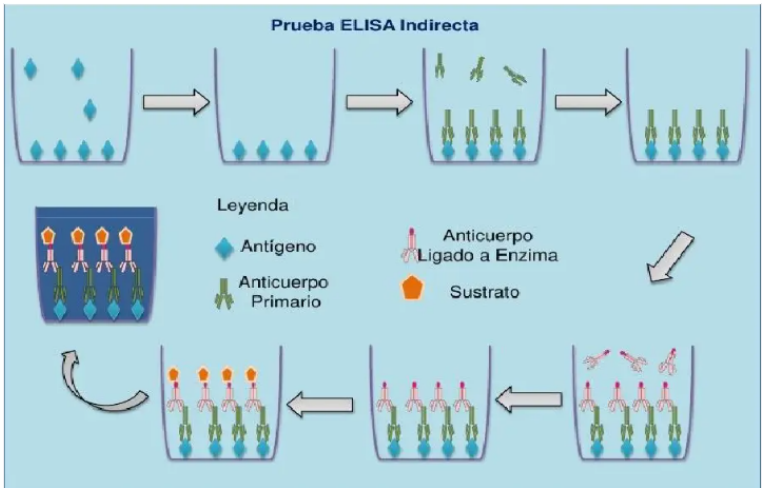
El siguiente paso consiste en añadir un anticuerpo secundario conjugado a una enzima diseñada para unirse de manera específica al complejo antígeno-anticuerpo. Una vez añadido, se vuelve a cubrir e incubar la placa por una hora a 37 °C para completar la interacción entre el anticuerpo secundario y el complejo formado en la etapa anterior. Asimismo, es necesario realizar otro lavado para eliminar cualquier anticuerpo que no esté unido. (MBL, 2017)

Para finalizar, hay que añadir a cada pocillo una solución de revelado que contiene un sustrato enzimático: si el anticuerpo secundario está presente, la enzima conjugada hidroliza el sustrato y produce un producto coloreado cuya intensidad es proporcional a la cantidad de anticuerpos. Para tal efecto, la placa debe incubarse en la oscuridad entre dos a diez minutos para luego detener la reacción al adicionar ácido sulfúrico (H_2SO_4). Por último, los resultados

se cuantifican por medio de un lector de ELISA que mide la intensidad del color generado a través de técnicas espectrofotométricas (Uruburu et al., 2013).

La prueba de ELISA indirecta la resume gráficamente la Figura 4:

Figura 4 *Procedimiento prueba ELISA indirecta*



Fuente: (Barloz, 2014)

Nota: la prueba permite detectar de manera específica y sensible anticuerpos en muestras biológicas.

Este ensayo tiene amplia aplicabilidad en diversas áreas de la salud, por ejemplo, en torno al diagnóstico de enfermedades parasitarias, como la toxoplasmosis, triquinosis y tripanosomiasis, pues se detectan anticuerpos específicos contra los parásitos es aplicable en humanos y varias especies animales (Lin, 2015). También es utilizado para detectar infecciones bacterianas, como aquellas causadas por Mycobacterium tuberculosis, brucelas, estreptococos y salmonelas, pues identifica respuestas inmunológicas frente a estos patógenos. Y en el campo de las enfermedades virales se aplica para identificar infecciones como la peste porcina, el rotavirus, la artritis vírica, la enfermedad de Newcastle y la leucemia felina (Yanez et al., 2025).

Como se indicó en líneas previas, el ELISA indirecto es útil para analizar hormonas, como la gonadotropina coriónica humana (GCH), la progesterona y la testosterona, pero

también para cuantificar inmunoglobulinas, como IgG, IgE e IgA, lo que es clave para evaluar el estado inmunológico del paciente. Inclusive, facilita la detección de anticuerpos anti-DNA, el factor reumatoide y los inmunocomplejos circulantes, proporcionando así información clave para el diagnóstico y el manejo de enfermedades autoinmunes y de otras condiciones relacionadas con el sistema inmunológico. Este ensayo es, por tanto, una herramienta versátil, de alta sensibilidad y de variable aplicación en diversas áreas: microbiología, parasitología, virología, endocrinología, inmunología, entre otras (Soto et al., 2024).

En definitiva, el ELISA indirecto tiene tres ventajas notables: 1) alta sensibilidad, pues el uso de un anticuerpo secundario permite amplificar la señal y múltiples anticuerpos secundarios pueden unirse a un solo anticuerpo primario; 2) flexibilidad, en vista de que es posible emplear diferentes anticuerpos primarios con un mismo anticuerpo secundario marcado, lo que facilita la detección de diversos anticuerpos específicos; 3) eficiencia en costos, debido a que la disponibilidad comercial de anticuerpos secundarios conjugados reduce la necesidad de producir anticuerpos marcados específicos para cada antígeno (Engvall y Perlmann, 1971).

2.3.6.2. Uso de antígenos

La reacción antígeno-anticuerpo ocurre al adicionar peróxido de hidrogeno, un sustrato no cromático que por acción de la enzima peroxidasa es transformado en un producto coloreado y soluble capaz de interpretarse cualitativa o cuantitativamente. Por supuesto, la enzima debe ser estable, de alta actividad especifica y de fácil unión covalente al antígeno o al anticuerpo (Medleau y Hnilica, 2007).

Los antígenos pueden ser de distintas clases: desde crudos, como el antígeno del promastigote soluble en detergente de Tritón X-100, hasta proteínas recombinantes, por ejemplo, el antígeno rK39 que reporta una sensibilidad y especificidad del 92 % al 100 % en

pacientes sintomáticos y del 66 % al 94 % en asintomáticos (Cannova et al., 2007). Claro que es fundamental su validación y estandarización en cada laboratorio y área endémica, así como su evaluación con sueros de pacientes en varias fases clínicas debido a que los títulos de anticuerpos pueden variar (Bonfante-Garrido et al., 1981).

2.3.7. Kits rápidos

Los kits comerciales de rápida detección de anticuerpos son muy utilizados. En general, consisten en ensayos inmunocromatográficos que emplean anticuerpos monoclonales IgG anticaninas marcados con oro coloidal y el antígeno de *Leishmania* de varias fuentes. Los resultados se obtienen en apenas diez minutos y con una especificidad razonable en cuatro de cinco kits (uno tuvo especificidad menor del 61 %), de acuerdo con el estudio de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2003), y con sensibilidad del 35 % al 66 %; además, la concordancia entre la prueba es incluso menor.

2.4. Resumen del estado del arte del estudio del problema

La leishmaniasis es una enfermedad zoonótica de gran relevancia causada por protozoarios del género *Leishmania*. La leishmaniasis canina, producto de *Leishmania infantum*, es una variación que afecta a los perros (*Canis lupus familiaris)* al ser los principales reservorios domésticos, pero el problema es aún más complejo debido a que puede transmitirse a las personas a través de la picadura de flebótomos infectados (*Phlebotomus* spp.); de ahí su asociación con la leishmaniasis visceral humana. Además, su presencia es latente en 98 países y es endémica en regiones de clima tropical y subtropical. En América Latina, su distribución es significativa en Brasil, Colombia y Venezuela, por nombrar algunos países.

Datos concretos los expone el estudio de García y Parada (2019) que investiga la presencia de anticuerpos en contra de *L. infantum*, *L. denovani* y otros patógenos en perros de Bucaramanga, Floridablanca y Piedecuesta. Las muestras sanguíneas de 212 canes alojados en

albergues y 124 con dueños fueron sometidas a pruebas de diagnóstico (SNAP de Leishmania de IDEXX-Lab) cuyos resultados evidencian una prevalencia de *Leishmania* spp. del 3.5 %: los perros de albergues, especialmente de las áreas rurales, tienen mayor prevalencia (83 %) en comparación con aquellos que tienen dueño (14 %). Asimismo, se confirma una correlación entre la edad y la probabilidad de ser positivo a la enfermedad.

Ahora bien, como parte del proceso de diagnóstico se emplea la técnica de ELISA indirecta debido a su alta sensibilidad y especificidad, pues permite detectar anticuerpos específicos para *L. infantum* en el suero de los perros, hecho que agiliza el diagnóstico temprano y la puesta en marcha de medidas de control y prevención. Por ese motivo, varios estudios destacan cuán importante es la vigilancia epidemiológica y el monitoreo de la leishmaniasis canina como componentes esenciales para reducir los casos en animales y humanos (Proaño, 2023)

Claro que, a pesar de los avances en la comprensión de la patogénesis, el diagnóstico y el control de la enfermedad, aún persisten desafíos significativos que deben afrontarse, como la variabilidad en la respuesta inmune de los perros, la presencia de infecciones asintomáticas y la necesidad de desarrollar estrategias integrales que tomen en cuenta el control de los vectores, la vacunación y el tratamiento efectivo de los animales afectados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Materiales físicos

Desde la Tabla 1 a la Tabla 3 se detallan los distintos materiales físicos utilizados:

Tabla 1. *Materiales de oficina*

Concepto	Unidad de medida	Cantidad
Computadora	Unidad	1
Hojas de papel	Paquete	1
Carpetas	Unidad	2
Grapadora	Unidad	1
Grapas	Caja	1

Tabla 2. *Materiales de campo*

Concepto	Unidad de medida	Cantidad
Jeringuilla de 3 ml	Caja de 100 unidades	1
Aguja vacutainer de toma múltiple	Caja de 100 unidades	2
Camisa de vacutainer	Unidad	1
Tubo BD Vacutainer Tapa roja	Caja de 100 unidades	2
Caja térmica T4	Unidad	1
Pilas de gel para refrigeración	Unidad	4
Alcohol antiséptico	Litro	1
Algodón de 500 gr	Unidad	1
Mascarillas	Caja	1
Guantes de examinación	Caja	1

Tabla 3. *Materiales de laboratorio*

Concepto	Unidad de medida	Cantidad
Puntas para micropipetas de 10 µl	Caja de 100 unidades	2
Puntas para micropipetas de 100 µl	Caja de 100 unidades	2
Micropipetas de volumen variable	Unidad	1
Tubos Eppendorf	Caja de 100 unidades	2
Centrífuga cónica 800B	Unidad	1
Equipo de ELISA	Unidad	1
Probeta de 25 ml	Unidad	1

3.1.2. Materiales biológicos

En cuanto a los materiales biológicos, la Tabla 4 los detallada:

Tabla 4. *Materiales biológicos*

Concepto	Unidad de medida	Cantidad
Kit de ELISA indirecta para *Leishmania infantum*	Unidad	1
Suero canino	Unidad	184

3.2. Diseño

La investigación se alineó a un diseño observacional, descriptivo y con enfoque deductivo con el fin de analizar la prevalencia de *Leishmania infantum* en una población canina específica y obtener así datos relevantes sobre la distribución de la enfermedad en una región determinada. El universo de estudio estuvo constituido por perros domésticos de diferentes localidades y se aplicó un muestreo aleatorio para asegurar la representatividad de los datos y reducir el sesgo.

La detección de la enfermedad estuvo encaminada por la técnica de ELISA indirecta, cuyos resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva en aras de calcular la

prevalencia. Además, se realizaron comparaciones entre las distintas localidades y posibles factores de riesgo asociados.

3.3. Población y muestra

Se empleó el tamaño mínimo de muestra para poblaciones infinitas, considerando una prevalencia esperada de 12,17 %, por medio de la siguiente Ecuación:

$$n= \frac{Z^2pq}{E^2}$$

Donde:

z: nivel de confianza al 95 %, es decir, 1.96

p: probabilidad de que ocurra el evento.

q (1-p): probabilidad de que no ocurra el evento.

d (5 % = 0.05): error estimado.

Entonces:

$$n= \frac{1{,}96^2\ (0{,}1217)(1-0{,}1217)}{0{,}05^2} = 184$$

De acuerdo con el resultado, para llevar a cabo el estudio se requirieron 184 muestras de sangre.

3.3.1. Procedimiento

En primera instancia, tienen que colocarse los reactivos a temperatura ambiente (21 °C ± 5 °C) antes de utilizarlos y deben homogenizarse por vortex o inversión (Innovative Diagnostics, s.f.). Luego, tienen que completarse los siguientes pasos:

1) Distribuir 190 µl del diluyente, dos a cada micropocillo.
2) Colocar 10 µl del control negativo en los pocillos A1 y B1.
3) Verter 10 µl del control positivo en los pocillos C1 y D1.
4) Disponer 10 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.

5) Cubrir la placa e incubar 45 minutos ± 5 minutos a 37 °C (± 2 °C).
6) Vaciar los pocillos y lavar cada uno tres veces con al menos 300 µl de la solución y evitar secarlos entre cada ciclo de lavado.
7) Preparar el conjugado 1X diluyendo el conjugado 10X a 1:10 con el diluyente.
8) Distribuir 100 µl del conjugado 1X a todos los pocillos.
9) Cubrir la placa e incubar 30 minutos ± 3 minutos a 37 °C (± 2 °C).
10) Vaciar los pocillos y lavar cada uno tres veces con al menos 300 µl de la solución y evitar secarlos entre cada ciclo de lavado.
11) Distribuir 100 µl de solución de revelación en cada pocillo.
12) Cubrir la placa e incubar 15 minutos ± 2 minutos a 21 °C (± 5 °C) en la oscuridad.
13) Colocar 100 µl de solución de parada en cada pocillo en el mismo orden que en el paso ocho para detener la reacción.
14) Leer la densidad óptica a 450 nm.

3.4. Estadística

Debido a las características y al propósito de la investigación no fue necesario realizar análisis estadísticos paramétricos ni pruebas de significancia, pero sí se llevó a cabo un análisis descriptivo de tipo numérico y proporcional para interpretar clara y objetivamente los resultados. De los casos positivos en cada localidad se calcularon las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes) para luego presentar la información en tablas y figuras que permiten evidenciar la distribución de la prevalencia en cada zona, dato calculado a partir de la siguiente ecuación y con el apoyo de EPI IFO 7.0:

$$\text{Prevalencia} = \frac{Número\ de\ muestras\ positivos}{Número\ total\ de\ muestras} X\ 100$$

De esa manera, fue posible analizar los resultados sin recurrir a inferencias estadísticas avanzadas y ajustándose a los objetivos de caracterización y descripción epidemiológica de la

investigación. Por último, el procesamiento y la construcción de la base de datos se llevó a cabo en Excel.

3.5. Operacionalización de variables

3.5.1. Variable dependiente

Tabla 5. *Variable dependiente: presencia de Leishmania infantum*

Concepto	Categoría	Indicadores	Variables
Presencia de anticuerpos contra leishmania en caninos	Biológico	Nivel de anticuerpos en sangre	Cuantitativa

3.5.2. Variable independiente

Tabla 6. *Variable independiente: ubicación geográfica*

Concepto	Categoría	Indicadores	Variables
Hábitat de los caninos estudiados	Física	Presencia del vector	Cualitativa
		Exposición al vector	Cualitativa
		Edad	Cuantitativa
		Peso	Cuantitativa
		Sexo	Cualitativa

3.6. Consideraciones éticas

Todo el proceso de investigación estuvo alineado a las normas éticas establecidas para estudios con animales y en concordancia con la legislación nacional e internacional vigente sobre bienestar animal. En ese sentido, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- Métodos no invasivos: la ELISA indirecta es una técnica de diagnóstico que requiere únicamente la recolección de muestras de sangre, por lo que es segura, alineada a aspectos éticos y respeta las normas de bioseguridad (Granoble, 2023).
- Bienestar animal: en todo momento se garantizaron las mejores condiciones de manejo y cuidado. Además, las muestras fueron tomadas por profesionales capacitados para minimizar el estrés y el dolor (Mrad de Osorio, 2006).
- Confidencialidad de los datos: la información de los resultados de las pruebas y aquella de índole personal de los propietarios de los animales es confidencial, pues de socializarse con terceros podría ser utilizada para ocasionar daños, estigmas o angustias (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas-CIOMS, 2016).
- Reducción del número de animales sin disminución de la precisión: implicó seleccionar adecuadamente los animales y utilizar la cantidad mínima necesaria para obtener resultados científicamente válidos (Russell y Burch, 1959).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia de *Leishmania Infantum* en la Costa Ecuatoriana

Tabla 7. *Prevalencia total de Leishmania infantum en la Costa Ecuatoriana*

PREVALENCIA TOTAL	Frecuencia	Prevalencia %	LI 95 %	LS 95 %
DUDOSA	3	1,63	0,34	4,69
NEGATIVA	180	97,83	94,53	99,40
POSITIVA	1	0,54	0,01	2,99
Total	184	100,00		

De las 184 muestras analizadas, 97,83% (180/184) fueron negativas para anticuerpos contra *Leishmania infantum*, 1,63% (3/84) fueron clasificadas como dudosas, y 1 0,54% (1/184) resultó positiva.

En Ecuador, se ha informado que es más común en la región Amazónica y la Sierra, con menor incidencia en la Costa (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2018).

Solo un 0,54% de muestras resultaron positivas, lo que indica una prevalencia notablemente baja en perros de la costa ecuatoriana. El hallazgo es consistente con estudios anteriores en la región. Por ejemplo, una investigación realizada en el cantón Durán, provincia del Guayas, reveló una seroprevalencia del 3% en perros examinados (Granoble, 2023).

A nivel regional, la prevalencia de leishmaniasis canina varía considerablemente. En países como Brasil, Argentina y Paraguay, se han reportado tasas de seroprevalencia que oscilan entre el 3,1% y el 36%, dependiendo de la región y los métodos diagnósticos utilizados (Marcondes, 2019). Estas diferencias pueden atribuirse a factores ecológicos, climáticos y socioeconómicos que influyen en la distribución del vector y la interacción entre perros y humanos.

4.2. Prevalencia por provincia

Tabla 8. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la provincia*

PROVINCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
EL ORO	0	0,00%	0,00%	70,76%
ESMERALDAS	0	0,00%	0,00%	70,76%
GUAYAS	0	0,00%	0,00%	70,76%
LOS RÍOS	0	0,00%	0,00%	70,76%
MANABÍ	0	0,00%	0,00%	70,76%
SANTA ELENA	0	0,00%	0,00%	70,76%
SANTO DOMINGO	3	100,00%	29,24%	100,00%
Total	3	100,00%		

Según la Tabla 8, se identificaron tres casos dudosos, todos ellos en la provincia de Santo Domingo, representando el 100% (3/3) de los casos dudosos detectados. En el resto de las provincias no se registraron muestras dudosas.

Tabla 9. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la provincia*

PROVINCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
EL ORO	26	14,44 %	9,66 %	20,44 %
ESMERALDAS	27	15,00 %	10,12 %	21,07 %
GUAYAS	26	14,44 %	9,66 %	20,44 %
LOS RÍOS	27	15,00 %	10,12 %	21,07 %
MANABÍ	26	14,44 %	9,66 %	20,44 %
SANTA ELENA	26	14,44 %	9,66 %	20,44 %
SANTO DOMINGO	22	12,22 %	7,82 %	17,92 %
Total	180	100,00 %		

La Tabla 9 muestra que el 97,83% de las muestras analizadas fueron negativas (180/184), con una distribución relativamente uniforme entre las provincias evaluadas. La provincia con menor

número de casos negativos fue Santo Domingo con 12,22% (22/180), mientras que las demás provincias presentaron entre 14,44% y 15% del total de casos negativos.

Tabla 10. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la provincia*

PROVINCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
EL ORO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
ESMERALDAS	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
GUAYAS	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
LOS RÍOS	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
MANABÍ	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SANTA ELENA	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SANTO DOMINGO	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
Total	1	100,00 %		

Según la Tabla 10, se detectó un único caso positivo en la provincia de Santo Domingo, representando el 100% de los casos positivos registrados (1/1). En las demás provincias no se identificaron casos positivos.

Solo se detectó un caso positivo, localizado en la provincia de Santo Domingo. Este hallazgo sugiere la necesidad de estudios más detallados en esta zona para evaluar el riesgo epidemiológico ya que según la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública, las tres provincias con mayor número de casos de Leishmaniasis cutánea en humanos en el año 2015 fueron Pichincha (332 casos), Santo Domingo de los Tsáchilas (214 casos) y Esmeraldas (208 casos). En conjunto, estas tres provincias concentraron el 53,82% de todos los casos notificados en el Ecuador (Callejas, 2017).

4.3. Prevalencia por origen

Tabla 11. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el origen*

ZONA DE PROCEDENCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
RURAL	2	66,67 %	9,43 %	99,16 %
URBANO	1	33,33 %	0,84 %	90,57 %
Total	3	100,00 %		

Se identificaron tres casos dudosos, con mayor frecuencia en perros provenientes de zonas rurales 66,67% (2/3) en comparación con los de zonas urbanas 33,33% (1/3).

La presencia de tres casos dudosos (dos en zonas rurales y uno en urbano) resalta la necesidad de mejorar las estrategias diagnósticas. Algunos estudios han señalado que las pruebas serológicas pueden arrojar resultados indeterminados debido a reacciones cruzadas con otros parásitos o a infecciones en estadios tempranos (Silva et al., 2019).

Tabla 12. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el origen*

ZONA DE PROCEDENCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
RURAL	105	58,33 %	50,77 %	65,62 %
URBANO	75	41,67 %	34,38 %	49,23 %
Total	180	100,00 %		

Casos negativos: Se observó que la mayoría de los perros negativos a *L. infantum* procedían de áreas rurales 58,33% (105/180), mientras que un 41,67% (75/180) pertenecían a zonas urbanas.

Tabla 13. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el origen*

ZONA DE PROCEDENCIA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
RURAL	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
URBANO	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
Total	1	100,00 %		

Solo se detectó un caso positivo, proveniente de una zona urbana 100% (1/1), sin evidencia de infección en perros rurales.

Tradicionalmente, la leishmaniasis ha sido considerada una enfermedad asociada a entornos rurales debido a la mayor exposición de los perros al vector en áreas boscosas o con alta vegetación (Queiroz, 2009). Sin embargo, estudios recientes indican una urbanización progresiva de la enfermedad, debido a la adaptación de los flebótomos a hábitats urbanos, la expansión de áreas verdes en ciudades y la migración de perros infectados desde zonas endémicas (Miró et al., 2017).

En zonas rurales, los perros pueden estar más expuestos a otros reservorios naturales de la enfermedad, como roedores y mamíferos silvestres (Baneth et al., 2008). Sin embargo, en este estudio no se detectaron casos positivos en perros rurales, lo que sugiere que la transmisión en esas áreas puede ser baja o intermitente.

4.4. Prevalencia por edad

Tabla 14. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la edad*

EDAD	Frecuencia	Porcentaje	LI 95	LS 95%
ADULTO	3	100,00 %	29,24 %	100,00 %
CACHORRO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
GERIÁTRICO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
Total	3	100,00 %		

Todos los casos dudosos identificados 100% (3/3) correspondieron a perros adultos, sin detección en cachorros o geriátricos.

Tabla 15. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la edad*

EDAD	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
ADULTO	162	90,00 %	84,66 %	93,96 %
CACHORRO	6	3,33 %	1,23 %	7,11 %
GERIÁTRICO	12	6,67 %	3,49 %	11,36 %
Total	180	100,00 %		

La mayoría de los perros negativos fueron adultos 90% (162/180), mientras que los cachorros representaron solo el 3,33% (6/180) y los perros geriátricos el 6,67% (12/180).

Tabla 16. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la edad*

EDAD	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
ADULTO	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
CACHORRO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
GERIÁTRICO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
Total	1	100,00 %		

Se detectó un único caso positivo, correspondiente a un perro adulto 100% (1/1), sin evidencias de infección en cachorros o perros geriátricos.

Los resultados indican que la prevalencia de la infección en perros adultos es mayor en comparación con cachorros y geriátricos, lo que concuerda con estudios previos que sugieren que la leishmaniasis canina es más común en perros adultos y de mediana edad (Solano et al., 2011).

Los perros adultos tienen una mayor probabilidad de exposición acumulativa al vector *Lutzomyia spp.* a lo largo de su vida en comparación con cachorros, lo que aumenta la probabilidad de infección (Dantas-Torres, 2009).

4.5. Prevalencia por raza

Tabla 17. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según la raza*

RAZA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
AKITA INU	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
DOBERMAN	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
FRENCH POODLE	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
GOLDEN RETRIVER	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
HUSKY SIBERIANO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
LABRADOR	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
MESTIZO	3	100,00 %	29,24 %	100,00 %
PASTOR ALEMÁN	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
PEKINÉS	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
PITBULL	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
PUG	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
ROTTWEILER	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
SAN BERNARDO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
SCHNAUZER	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
SHIH TZU	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
Total	3	100,00 %		

Se encontraron tres casos dudosos 100% (3/3), todos en perros mestizos, sin presencia de casos dudosos en razas puras.

Esto podría indicar una respuesta inmune temprana o una baja carga parasitaria que no alcanza a ser detectada de manera concluyente por la técnica de ELISA indirecta ya que el diagnóstico está influenciado principalmente por la respuesta inmunitaria del huésped, que difiere según la presencia de otras enfermedades asociadas o incluso según la raza en los perros. (Ivanescu, 2023)

Tabla 18. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según la raza*

RAZA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
AKITA INU	1	0,56 %	0,01 %	3,06 %
DOBERMAN	3	1,67 %	0,35 %	4,79 %
FRENCH POODLE	15	8,33 %	4,74 %	13,37 %
GOLDEN RETRIVER	3	1,67 %	0,35 %	4,79 %
HUSKY SIBERIANO	4	2,22 %	0,61 %	5,59 %
LABRADOR	6	3,33 %	1,23 %	7,11 %
MESTIZO	118	65,56 %	58,12 %	72,47 %
PASTOR ALEMÁN	2	1,11 %	0,13 %	3,96 %
PEKINÉS	4	2,22 %	0,61 %	5,59 %
PITBULL	3	1,67 %	0,35 %	4,79 %
PUG	1	0,56 %	0,01 %	3,06 %
ROTTWEILER	1	0,56 %	0,01 %	3,06 %
SAN BERNARDO	1	0,56 %	0,01 %	3,06 %
SCHNAUZER	7	3,89 %	1,58 %	7,85 %
SHIH TZU	11	6,11 %	3,09 %	10,67 %
Total	180	100,00 %		

La mayoría de los perros negativos correspondieron a la raza mestiza 65,56% (118/180), seguida por el French Poodle 8,33% (15/180) y Shih Tzu 6,11% (11/180).

Otras razas con presencia de casos negativos incluyen Labrador, Schnauzer, Pastor Alemán, Doberman y Husky Siberiano.

Tabla 19. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según la raza*

RAZA	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
AKITA INU	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
DOBERMAN	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
FRENCH POODLE	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
GOLDEN RETRIVER	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
HUSKY SIBERIANO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
LABRADOR	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
MESTIZO	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
PASTOR ALEMÁN	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
PEKINÉS	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
PITBULL	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
PUG	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
ROTTWEILER	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SAN BERNARDO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SCHNAUZER	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SHIH TZU	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
Total	1	100,00 %		

Se registró un único caso positivo, correspondiente a un perro mestizo 100% (1/1), sin presencia de casos positivos en razas puras.

Los resultados sugieren que los perros mestizos presentan una mayor prevalencia de infección por *Leishmania infantum* en comparación con razas puras, lo que concuerda con diversos estudios previos (Baneth et al., 2008). Esta mayor prevalencia en perros mestizos puede explicarse porque en muchas regiones endémicas, los perros mestizos suelen tener mayor acceso al exterior y menos restricciones de movilidad, lo que incrementa su riesgo de exposición a los vectores *Lutzomyia spp.* (Dantas-Torres, 2009).

4.6. Prevalencia por sexo

Tabla 20. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el sexo*

SEXO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	3	100,00 %	29,24 %	100,00 %
MACHO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
Total	3	100,00 %		

En los datos presentados, la prevalencia de casos dudosos de *Leishmania infantum* según el sexo muestra que el 100% (3/3) de los casos dudosos se reportaron en hembras (Tabla 20) y no se observaron casos dudosos en los machos.

Tabla 21. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el sexo*

SEXO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	116	64,44 %	56,98 %	71,42 %
MACHO	64	35,56 %	28,58 %	43,02 %
Total	180	100,00 %		

En cuanto a los casos negativos, la prevalencia muestra una distribución desigual entre sexos (Tabla 21). Las hembras representaron el 64.44% (116/180) de los casos negativos, mientras que los machos constituyeron el 35.56% (64/180). Esto sugiere que las hembras podrían tener una mayor probabilidad de ser diagnosticadas como negativas para la infección, lo que podría estar relacionado con factores inmunológicos o de exposición ambiental.

Tabla 22. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el sexo*

SEXO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
MACHO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
Total	1	100,00 %		

Finalmente, en los casos positivos de *Leishmania infantum*, se observó que el 100% (1/1) de los casos positivos correspondieron a hembras, con una prevalencia extremadamente baja en los machos (Tabla 22). Este resultado resalta una clara tendencia en la población de perros infectados, con una prevalencia total de un solo caso positivo, lo que nuevamente resalta la necesidad de interpretar estos datos con cautela, dada la escasa cantidad de muestras y la posible influencia de variables no controladas.

4.7. Prevalencia por estadio reproductivo

Tabla 23. *Prevalencia de casos dudosos según el estadio reproductivo*

ESTERILIZADO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	2	66,67 %	9,43 %	99,16 %
SI	1	33,33 %	0,84 %	90,57 %
Total	3	100,00 %		

En la tabla 23, se observa que el 66.67% (2/3) de los casos dudosos corresponden a perros no esterilizados, mientras que el 33.33% (1/3) corresponde a perros esterilizados. Este patrón sugiere que, a pesar de que los perros no esterilizados parecen tener una mayor prevalencia de casos dudosos, la diferencia no es abrumadora, ya que la muestra total de casos dudosos es pequeña (solo tres casos).

Tabla 24. *Prevalencia de casos negativos según el estadio reproductivo*

ESTERILIZADO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	80	44,44 %	37,05 %	52,02 %
SI	100	55,56 %	47,98 %	62,95 %
Total	180	100,00 %		

En la tabla 24, se observa que el 55.56% (100/180) de los perros esterilizados no tienen *Leishmania infantum*, frente a un 44.44% (80/180) de perros no esterilizados. Aunque los perros esterilizados representan una mayor proporción de casos negativos, la diferencia entre los dos grupos es relativamente pequeña. Este dato podría indicar que la esterilización no tiene un impacto directo considerable sobre la prevalencia de la enfermedad, lo cual es consistente con estudios que no han encontrado una relación clara entre el estado reproductivo y la susceptibilidad a *Leishmania infantum*.

Tabla 25. *Prevalencia de casos positivos según el estadio reproductivo*

ESTERILIZADO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SI	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
Total	1	100,00 %		

En la tabla 25, se observa que el 100% (1/1) de los casos positivos de *Leishmania infantum* correspondieron a perros esterilizados, con un solo caso positivo reportado. No se encontraron casos positivos entre los perros no esterilizados. Otros estudios no han encontrado una relación significativa entre el estado reproductivo y la prevalencia de la leishmaniasis en perros, sugiriendo que otros factores, como la exposición a vectores, pueden tener un papel más relevante. No se ha podido comparar con estudios previos esta variable, sin embargo, es

importante resaltar que estos datos son el punto de partida para generar información sobre este tema y ahora cimentamos una información para futuras investigaciones.

4.8. Prevalencia según el peso

Tabla 26. *Prevalencia de casos dudosos de Leishmania infantum según el peso*

PESO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
< 5 KG	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
10-25 KG	1	33,33 %	0,84 %	90,57 %
25-40 KG	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
5-10 KG	2	66,67 %	9,43 %	99,16 %
Total	3	100,00 %		

En la Tabla 26, se observa que los casos dudosos de *Leishmania infantum* se presentan en perros con un peso entre 5-10 kg 66.67% (2/3) y 10-25 kg 33.33% (1/3). No se registraron casos dudosos en perros de menos de 5 kg ni en aquellos de 25-40 kg.

En cuanto a los casos dudosos, se observó una mayor frecuencia en el rango de 5-10 kg 66,67% (2/3), lo que podría indicar una respuesta inmune temprana o una baja carga parasitaria que no alcanza a ser detectada de manera concluyente por la técnica de ELISA indirecta. Este fenómeno ha sido reportado en otros estudios, donde los casos dudosos suelen estar asociados a infecciones subclínicas o a una reactividad cruzada con otros patógenos (Maia & Campino, 2008).

Tabla 27. *Prevalencia de casos negativos de Leishmania infantum según el peso*

PESO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
< 5 KG	7	3,89 %	1,58 %	7,85 %
10-25 KG	40	22,22 %	16,38 %	29,01 %
25-40 KG	3	1,67 %	0,35 %	4,79 %
5-10 KG	130	72,22 %	65,07 %	78,63 %
Total	180	100,00 %		

Según la Tabla 27, la mayoría de los perros negativos a *Leishmania infantum* se encuentran en el grupo de 5-10 kg 72.22% (130/180), seguido por los de 10-25 kg 22.22% (40/180). Los perros de menos de 5 kg y los de 25-40 kg representan una proporción mínima de casos negativos, con 3.89% (7/180) y 1.67% (3/180), respectivamente.

Por otro lado, la mayoría de los casos negativos se concentraron en el rango de 5-10 kg 72,22% (130/180), lo que sugiere que este grupo de peso podría tener una menor exposición al vector o una mayor resistencia inmunológica.

Tabla 28. *Prevalencia de casos positivos de Leishmania infantum según el peso*

PESO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
< 5 KG	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
10-25 KG	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
25-40 KG	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
5-10 KG	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
Total	1	100,00 %		

La Tabla 28 indica que el único caso positivo de *Leishmania infantum* se encontró en un perro con un peso de 5-10 kg 100% (1/1), mientras que en los demás grupos de peso no se registraron casos positivos.

Este hallazgo es consistente con estudios previos que reportan una mayor susceptibilidad a la infección en perros de tamaño pequeño a mediano, posiblemente debido a factores como la mayor exposición a vectores o condiciones inmunológicas específicas (Solano-Gallego et al., 2011).

4.9. Prevalencia por presencia del vector

Tabla 29. *Prevalencia de casos dudosos según la presencia del vector*

PRESENCIA DEL VECTOR	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
SI	3	100,00 %	29,24 %	100,00 %
Total	3	100,00 %		

En la Tabla 29, se observa que todos los casos dudosos 100% (3/3) de *Leishmania infantum* se registraron en áreas con presencia del vector, mientras que en zonas sin el vector no se reportaron casos dudosos. Esto sugiere que la exposición a *Lutzomyia spp.* puede inducir una respuesta inmunitaria en algunos perros, generando resultados intermedios en las pruebas serológicas. Estudios previos han indicado que los perros expuestos a la picadura del flebótomo pueden desarrollar respuestas inmunitarias específicas contra el parásito, sin necesariamente progresar a una infección activa (Solano-Gallego et al., 2017).

Tabla 30. *Prevalencia de casos negativos según la presencia del vector*

PRESENCIA DEL VECTOR	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	10	5,56 %	2,70 %	9,98 %
SI	170	94,44 %	90,02 %	97,30 %
Total	180	100,00 %		

La Tabla 30 muestra que el 94.44% (170/180) de los casos negativos se registraron en zonas con presencia del vector, mientras que solo el 5.56% (10/180) de los casos negativos provienen de zonas sin el vector.

La alta proporción de casos negativos en zonas con el vector también podría estar relacionada con la implementación de medidas de control en la región, como el uso de collares impregnados con insecticida, vacunación y la reducción de la población del flebótomo mediante fumigaciones. Investigaciones en otras regiones endémicas han demostrado que la aplicación de estrategias de control vectorial puede reducir significativamente la prevalencia de la infección en perros y, por ende, disminuir el riesgo de transmisión a humanos (Gálvez et al., 2020).

Tabla 31. *Prevalencia de casos positivos según la presencia del vector*

PRESENCIA DEL VECTOR	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
SI	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
Total	1	100,00 %		

En la Tabla 31 se observa que el único caso positivo 100% (1/1) de *Leishmania infantum* provino de un área donde el vector estaba presente, mientras que no se registraron casos positivos en zonas sin el vector. Este hallazgo es consistente con la literatura científica, que señala que la transmisión de *Leishmania* es producida por más de 20 especies de protozoos

pertenecientes al género *Leishmania* y está directamente vinculada a la presencia del flebótomo. (Ivanescu, 2023)

4.10. Prevalencia por diagnóstico previo

Tabla 32. *Prevalencia de casos dudosos según el diagnóstico previo*

DIAGNOSTICO PREVIO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
DIROFILARIA	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
ERLICHIA	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
MICROFILARIA	0	0,00 %	0,00 %	70,76 %
NINGUNA	3	100,00 %	29,24 %	100,00 %
Total	3	100,00 %		

Los datos de la Tabla 32 muestran que todos los casos dudosos de *Leishmania infantum* 100% (3/3) corresponden a perros sin diagnóstico previo de otras enfermedades. Esto sugiere que la exposición al parásito no necesariamente está asociada con coinfecciones en estos animales.

Tabla 33. *Prevalencia de casos negativos según el diagnóstico previo*

DIAGNOSTICO PREVIO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
DIROFILARIA	3	1,67 %	0,35 %	4,79 %
ERLICHIA	9	5,00 %	2,31 %	9,28 %
MICROFILARIA	1	0,56 %	0,01 %	3,06 %
NINGUNA	167	92,78 %	87,97 %	96,10 %
Total	180	100,00 %		

En la Tabla 33, se observa que la mayoría de los perros negativos para *Leishmania infantum* 92.78% (167/180) no presentaban diagnóstico previo de otras enfermedades. Solo un pequeño

porcentaje de perros negativos había sido diagnosticado con *Ehrlichia canis* 5% (9/180), *Dirofilaria immitis* 1.67% (3/180) y *Microfilaria spp.* 0.56% (1/180).

Tabla 34. *Prevalencia de casos positivos según el diagnóstico previo*

DIAGNOSTICO PREVIO	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
DIROFILARIA	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
ERLICHIA	1	100,00 %	2,50 %	100,00 %
MICROFILARIA	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
NINGUNA	0	0,00 %	0,00 %	97,50 %
Total	1	100,00 %		

La Tabla 34 muestra que el único caso positivo de *Leishmania infantum* estaba asociado a un perro previamente diagnosticado con *Ehrlichia canis*.

Esta relación entre ambas enfermedades concuerda con estudios que han señalado que la coinfección con *Ehrlichia* puede aumentar la susceptibilidad a la infección por *Leishmania infantum* debido a la inmunosupresión inducida por la ehrlichiosis (Baneth et al., 2020). Esta relación es preocupante, ya que la coinfección podría complicar el diagnóstico y tratamiento de los perros afectados, requiriendo un abordaje terapéutico más complejo (Dantas-Torres & Otranto, 2020). Sin embargo, es importante considerar que el tamaño reducido de la muestra en este estudio limita la generalización de estos resultados.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

La presente investigación evidenció la presencia de *Leishmania infantum* en perros de la Costa Ecuatoriana, con una prevalencia general baja de 0,54% (1/184) en comparación con otros estudios realizados en zonas endémicas. Sin embargo, la detección de casos positivos (1/184) y dudosos (3/184) sugiere la circulación del parásito en la región, lo que refuerza la importancia de continuar con estudios epidemiológicos.

Los perros mestizos representaron el grupo con mayor prevalencia de infección, sin casos positivos en razas puras. Esto podría estar relacionado con factores genéticos, condiciones de vida y mayor exposición a ambientes con presencia del vector.

La técnica de ELISA indirecta permitió detectar casos positivos y dudosos con alta sensibilidad, lo que resalta su utilidad en la vigilancia epidemiológica de la leishmaniasis canina en la región. Sin embargo, se recomienda complementar con métodos moleculares para confirmar la presencia del parásito en casos dudosos.

Aunque los resultados muestran una prevalencia baja, la detección de casos positivos implica un riesgo potencial para la salud pública. Los perros infectados pueden actuar como reservorios y facilitar la transmisión a humanos, especialmente en áreas donde la enfermedad es endémica.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda la implementación de programas de vigilancia epidemiológica con muestreos periódicos en la zona de estudio para evaluar la dinámica de transmisión y prevenir la expansión de la enfermedad.

Es fundamental fortalecer medidas de control de Lutzomyia spp., principal vector de la leishmaniasis, mediante estrategias como el uso de insecticidas, control ambiental y reducción de criaderos.

Para mejorar la precisión en la detección de casos, se sugiere combinar pruebas serológicas con métodos moleculares como la PCR, especialmente en perros asintomáticos o con resultados dudosos.

Dado que los perros mestizos y adultos presentaron mayor prevalencia, es necesario priorizar medidas de prevención en este grupo, incluyendo el uso de collares repelentes, vacunas y control sanitario adecuado.

Es necesario ampliar el estudio a un mayor número de muestras y abarcar otras regiones del país para establecer patrones más precisos sobre la distribución de la enfermedad y su relación con factores ambientales y genéticos.

6. BIBLIOGRAFÍA

Acero, V., Ángel, P., Fonseca, E., Ferrer, L. y Roura, X. (2015). Leishmaniosis canina: herramientas para el diagnóstico en la práctica veterinaria en Colombia. *MVZ Córdoba, 20*(3):4822-4842. https://www.redalyc.org/pdf/693/69341382016.pdf

Ackerman. (2008). Atlas de dermatología en pequeños animales. Buenos Aires: Intermédica

Alonso, F., Giménez, P., Manchón, M., Ruiz, R., Segovia, M. y Berriatua, E. (2010). Geographical Variation and Factors Associated to Seroprevalence of Canine Leishmaniosis in an Endemic Mediterranean Area. *Zoonoses and Public Health*, *57*(5), 318-328. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01228.x

Antoine, J., Prina, E., Jouanne, C. y Bongrand, P. (1990). Parasitophorous vacuoles of Leishmania amazonensis-infected macrophages maintain an acidic pH. *Infection and immunity*, *58*(3), 779-787. DOI: https://doi.org/10.1128/iai.58.3.779-787.1990

Aydin S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, *72*, 4-15. DOI: https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012

Baneth, G., Koutinas, A. F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., & Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in parasitology*, *24*(7), 324–330. DOI: https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001

Barloz, C. (18 de febrero 2014). *Método ELISA*. https://es.slideshare.net/slideshow/elisa-copia/31353252

Belinchón, S., Parejo, J., Iniesta, V., Fernández, J., Muñoz, R., Monroy, I., Baz, V., Gómez, A., Serrano, F., Barneto, J. y Gómez, L. (2016). First detection of Leishmania kDNA in canine cerumen samples by qPCR. *Veterinary parasitology*, *228*, 65-68. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.021

Bonfante-Garrido, R., Morillo, N. y Torres, R. (1981). Leishmaniasis cutánea canina en Venezuela. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, *91*(2), 160-165. https://iris.paho.org/handle/10665.2/17171

Bongiorno, G., Paparcone, R., Foglia Manzillo, V., Oliva, G., Cuisinier, A. y Gradoni, L. (2013). Vaccination with LiESP/QA-21 (CaniLeish®) reduces the intensity of infection in Phlebotomus perniciosus fed on Leishmania infantum infected dogs--a preliminary xenodiagnosis study. *Veterinary parasitology*, *197*(3-4), 691-695. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.05.008

Borja, G., Quinchuela, J., Gómez. J., Suárez, B., Robles, G., Rivera, S. y Tufiño, J. (2017) Estudio de factores de riesgo para transmisión de leishmaniosis cutánea americana en un área endémica de la Provincia de Pichincha. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito),* *42*(1):141-149. https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/CIENCIAS_MEDICAS/article/view/1575

Callejas Espinosa, A. (2017). Reporte de leishmaniasis en dos caninos atendidos en la ciudad de Quito–Ecuador (Tesis de grado). Universidad San Francisco de Quito, Quito. http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/6549

Cannova, D., Cañate, R., Castillo, L., Cruces, M., Zambrano, G. y Simons, MI (2007). Evaluación del antígeno recombinante K39 para el serodiagnóstico de leishmaniasis visceral mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA). *Salus*, *11*(3), 26-29. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375938985006

Cordero, M., y Rojo, F. (2000). *Parasitología Veterinaria.* (1ª ed.). España: McGraw-Hill Interamericana.

Coura, W., Marques, M., Veloso, V., Mendes, B., de Oliveira, R., Soares, L., Braga, S., Franco, M. y Barbosa, A. (2011). Prevalence and factors associated with Leishmania infantum

infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *5*(8). e1291. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001291

Cousiño, B. (2006). Vigilancia y Control de la leishmaniasis en el Paraguay. En Organización Panamericana de la Salud (Coord.), *Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las américas* (pp. 34-36). OPS. https://www3.paho.org/hq/dmdocuments/2012/leishmaniasis-Inf-consulta-expertos-2005.pdf

Dantas-Torres, F. (2009). *Canine leishmaniasis in South America*. *Parasites & Vectors*, *2*(1), 8-19. DOI: http://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S1

Engvall, E. y Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry, 8*(9), 871-874. DOI: https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-X

Fernández, T. y Almeida, R. (2012). Reporte de lesiones mucosas en leishmaniosis tegumentaria americana en el litoral (Costa) ecuatoriano. *Revista de Patología Tropical*, *41*(3), 356-366. DOI: https://doi.org/10.5216/rpt.v41i3.20758

Galluzzi, L., Ceccarelli, M., Diotallevi, A., Menotta, M. y Magnani, M. (2018). Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, *11*, 1-13. DOI: https://doi.org/10.1186/s13071-018-2859-8

Gálvez, R., Montoya, A., Cruz, I., Fernández, C., Martín, O., Checa, R., Chicharro, C., Migueláñez, S., Marino, V., & Miró, G. (2020). Latest trends in Leishmania infantum infection in dogs in Spain, Part I: mapped seroprevalence and sand fly distributions. *Parasites & vectors*, *13*(1), 204. DOI: https://doi.org/10.1186/s13071-020-04081-7

García, M. y Parada, L. (2019). *Tamizaje de 5 agentes zoonóticos en caninos domésticos y de albergues de Bucaramanga, Floridablanca y Piedecuesta Santander* (Tesis de maestría), Universidad de Santander. Santander. https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/a2dcc5b2-69c2-48fb-ba4d-cdc39f240484/content

Geisweid, K., Weber, K., Sauter-Loui, C. y Hartmann, K. (2013). Evaluation of a Conjunctival Swab Polymerase Chain Reaction for the Detection of Leishmania Infantum in Dogs in a Non- Endemic Area. *The Veterinary Journal*, *198*(1), 187-192. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.025

Gómez, J., & Cañarte, J. (2022). Leishmaniasis: un tema siempre de actualidad. *Revista Científica Arbitrada en Investigaciones de la Salud "GESTAR",* 5(10), 2-20.

Gramiccia, M., Di Muccio, T., Fiorentino, E., Scalone, A., Bongiorno, G., Cappiello, S., Paparcone, R., Foglia Manzillo, V., Maroli, M., Gradoni, L. y Oliva, G. (2010). Longitudinal study on the detection of canine Leishmania infections by conjunctival swab analysis and correlation with entomological parameters. *Veterinary Parasitology*, *171*(3-4), 223-228. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.03.025

Granoble, M., Macias, M., y Mendoza, G. (2023). *Seroprevalencia de Leishmania spp. en perros del cantón Durán provincia del Guayas, Ecuador. Revista Científica Ecológica Agropecuaria*. *2*(2). 43-48. DOI: https://doi.org/10.53591/recoa.v2i2.1674

Guiscasho, A. (2013). *Determinación de leishmaniasis en perros domésticos en la urbanización Los Girasoles en la ciudad de Guayaquil* (Tesis de pregrado), Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga. https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/2c177846-3161-49ce-b65c-9b329a275f4e/content

Guzmán, L., Nava, E., Pineda, Ortuño, C., Cortés, K. y Chávez, L. (2024). Uso de Clembuterol en la Producción Bovina. *Ciencia Latina*, *8*(1), 11082-11101. DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.10418

Hernández, C. A., Bernal, M. P., Delgado, M., Pérez, E., & Sánchez, J. M. (2025). Optimización de un ELISA indirecto para evaluar la inmunogenicidad no deseada del Heberprot-P®. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 44.

Hernández, L. (2016). *Estudio de la infección por Leishmania infantum en el perro: utilidad de las técnicas diagnósticas no invasivas y nuevas alternativas terapéuticas* (Tesis de doctorado), Universidad Complutense de Madrid, Madrid. https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/5a83d512-2400-4c2f-b76c-a4ac451b56bb/content

Hernández, L., Mondragón, R. y Barrios, J. (2023). Evaluación de las fases del ciclo estral de la rata mediante frotis vaginales y mediciones hormonales. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *7*(2), 7482-7505. DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i2.5877

Holzmuller, P., Hide, M., Sereno, D. y Lemesre, J. (2016). Leishmania infantum amastigotes resistant to nitric oxide cytotoxicity: Impact on in vitro parasite developmental cycle and metabolic enzyme activities. *Infection, Genetics and Evolution*, *6*(3), 187-197. DOI: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2005.03.003

Innovative Diagnostics. (s.f.). *Indirect ELISA kit for the detection of anti-Leishmania infantum antibodies in canine serum and plasma*. https://www.innovative-diagnostics.com/produit/id-screen-leishmaniasis-indirect/

Ivanescu, L., Andronic, B. L., Grigore-Hristodorescu, S., Martinescu, G. V., Mîndru, R., & Miron, L. (2023). The immune response in canine and human leishmaniasis and how

this influences the diagnosis- a review and assessment of recent research. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *13*, 1326521. DOI: https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1326521

Jaramillo, C. y Martínez, J. (2010). *Epidemiología veterinaria*. México: El Manual Moderno.

Killick-Kendrick, R., Rioux, J., Bailly, M., Guy, M., Wilkes, T., Guy, F., Davidson, I., Knechtli, R., Ward, R. y Guilvard, E. (1984). Ecology of leishmaniasis in the south of France. 20. Dispersal of Phlebotomus ariasi Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cévennes. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, *59*(6), 555-572. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6524821/

Lin, AV (2015). ELISA indirecta. En: Hnasko, R. (eds) ELISA. Métodos en biología molecular, vol. 1318. Nueva York: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5_5

Lombardo, G., Pennisi, M., Lupo, T., Migliazzo, A., Caprì, A. y Solano, L. (2012). Detection of Leishmania infantum DNA by real-time PCR in canine oral and conjunctival swabs and comparison with other diagnostic techniques. *Veterinary parasitology*, *184*(1), 10-17. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.010

Maia, C. y Campino, L. (2008). Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary parasitology*, *158*(4), 274-287. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.07.028

Makino, H., Moreira, J., Bezerra, K., Otsubo, A., Bortolini, J., Franco, V., Dutra, V., Colodel, E. M., Nakazato, L. y Ferreira, A. (2020). Clinical-Dermatological, Histological Abnormalities and Prevalence of Trypanosoma Caninum and Leishmania Infantum in Dogs from Midwest Region of Brazil. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria, 29*(1), e016319. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-29612019100

Marcondes, M., y Day, M. (2019). Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. *Research in Veterinary Science. 123,* 261-272. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.01.022

Medleau, L. y Hnilica, K. (2007). *Dermatología de pequeños animales (atlas en color y guía terapéutica*). Zaragoza: Elsevier.

MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES. (2017). Principio y método de ELISA. Obtenido de MBL Life Science: https://www.mblbio.com/bio/g/support/method/elisa.html

Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP). (2018). *Manual de vigilancia epidemiológica de la leishmaniasis en Ecuador*. Disponible en: https://www.salud.gob.ec

Miró, G., Müller, A., Montoya, A., Checa, R., Marino, V., Marino, E., Fuster, F., Escacena, C., Descalzo, M. A., & Gálvez, R. (2017). Epidemiological role of dogs since the human leishmaniosis outbreak in Madrid. *Parasites & vectors*, *10*(1), 209. DOI: https://doi.org/10.1186/s13071-017-2147-z

Molecular Devices. (s.f.). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Obtenido de Molecular Devices: https://es.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa

Molina, R., Miró, G., Gálvez, R., Nieto, J. y Descalzo, M. (2006). Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against Phlebotomus perniciosus. *The Veterinary Record*, *159*(7), 206-209. DOI: https://doi.org/10.1136/vr.159.7.206

Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary sciences*, *9*(8), 387. DOI: https://doi.org/10.3390/vetsci9080387

Mrad de Osorio, A., (2006). Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compite a todos. *Revista Colombiana de Bioética, 1*(1), 163-183. https://www.redalyc.org/pdf/1892/189217283010.pdf

Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. (3ra ed., Vol. 4). OPS. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/711/9275119936.pdf

Organización Panamericana de la Salud y Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médica (CIOMS). (2016). Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos. Recuperado de: https://cioms.ch/wp-content/uploads/2017/12/CIOMS-EthicalGuideline_SP_INTERIOR-FINAL.pdf

Ortega, A., Gutiérrez, E., Escamilla, W., Cordero, L., Jiménez, M. y Loria, N. (2019). A Fatal Case of Canine Cutaneous Leishmaniosis in a Dog. *Annals of parasitology*, *65*(2), 183-186. DOI: https://doi.org/10.17420/ap6502.200

Otranto, D., Paradies, P., de Caprariis, D., Stanneck, D., Testini, G., Grimm, F., Deplazes, P. y Capelli, G. (2009). Toward Diagnosing Leishmania Infantum Infection in Asymptomatic Dogs in an Area Where Leishmaniasis is Endemic. *Clinical and Vaccine Immunology*, *16*(3), 337-343. DOI: https://doi.org/10.1128/CVI.00268-08

Pennisi, M. (2015). Leishmaniosis of Companion Animals in Europe: An Update. *Veterinary Parasitology*, *208*(1-2), 35-47. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.023

Peters, W. y Killick, R. (Eds.). (1987). *The leishmaniases in biology and medicine*. (Vol. 1). London: Academic Press Inc.

Proaño, R. (2023). *Estudio serológico de (Leishmania infantum) en caninos de campañas de esterilización mediante la técnica de ELISA indirecta* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.

Queiroz, P. V., Monteiro, G. R., Macedo, V. P., Rocha, M. A., Batista, L. M., Queiroz, J. W., Jerônimo, S. M., & Ximenes, M. F. (2009). Canine visceral leishmaniasis in urban and rural areas of Northeast Brazil. *Research in veterinary science*, *86*(2), 267–273. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.07.014

Ramírez, A. (22 de agosto de 2022). *El test ELISA como herramienta de diagnóstico (1/2): Principios básicos.* 3tres3. https://www.3tres3.com/latam/articulos/elisa-como-herramienta-de-diagnostico-1-2-principios-basicos_14334/

Rivero, M. (2016). *Detección de Leishmania spp. en población canina (Canis familiaris) del área urbana del municipio de Ovejas, Sucre* (Tesis de pregrado), Universidad de Sucre, Sucre. https://repositorio.unisucre.edu.co/entities/publication/35163c90-4916-4034-aa90-be39dc5b296a

Rodríguez, E. (2019). *Ehrlichiosis y leishmaniosis en gatos.* (Tesis de pregrado), Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Colombia. https://repository.udca.edu.co/server/api/core/bitstreams/89bf3397-4783-441f-8c20-8afacf0b7746/content

Russell, W. y Burch, R. (1959). *The principles of humane experimental technique.* Michigan*:* Methuen & Co. Ltd.

Saridomichelakis, M. (2009). Advances in the Pathogenesis of Canine Leishmaniosis: Epidemiologic and Diagnostic Implications. *Veterinary Dermatology*, *20*(5-6), 471-489. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00823.x

Serrano, E., Hinostroza, C.., Quispe, M., Leguia., G. y Burga, C. (2023). Comparación de inmunofluorescencia indirecta y ELISA para el diagnóstico de Neospora caninum en alpacas. *Biotempo*, *20*(1), 79-84. DOI: https://doi.org/10.31381/biotempo.v20i1.5630

Servicio Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores Artrópodos (SNEM). (2017). *Proyecto de vigilancia y control de vectores para la prevención de la transmisión de las enfermedades metaxenicas en el Ecuador 2013-2017*. https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/Metax%C3%A9nicas.pdf

Sharma, U. y Singh, S. (2008). Insect Vectors of Leishmania: Distribution, Physiology and Their Control. *Journal of Vector Borne Diseases*, *45*(4), 255-272. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19248652/

Silva, D. A. D., Bonatto, N. C. M., Venturin, G. L., Melo, L. M., Oliveira, P. L., Costa, L. R., Bosculo, M. R. M., Barros, L. D., Lima, V. M. F., & Almeida, B. F. M. (2021). Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in a vulnerable region in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 14(2), e0212935. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-29612021075

Solano, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. y The LeishVet Group (2011). LeishVet Guidelines for the Practical Management of Canine Leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, *4(86)*. 1-16. DOI: https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86

Song, J. G., Baral, K. C., Kim, G. L., Park, J. W., Seo, S. H., Kim, D. H., Jung, D. H., Ifekpolugo, N. L., & Han, H. K. (2023). Quantitative analysis of therapeutic proteins in biological fluids: recent advancement in analytical techniques. *Drug delivery*, *30*(1), 2183816. https://doi.org/10.1080/10717544.2023.2183816

Soto, M., Pinedo, R., García, M. y Chávez, A. (2024). Seroprevalencia de Toxoplasma gondii en ovinos de la región Áncash, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 35(5). e29293. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172024000500021

Spickler, A. (2022). *Leishmaniasis (Cutaneous and Visceral).* The Center for Food Security and Public Health. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/leishmaniasis.pdf

Uruburu, M., Bedoya, J. y Velázquez, L. (2013). ELISA indirecta para el diagnóstico de fasciolosis bovina en leche. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *8*(2), 9-16. https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/2850

Ushiña, L., Loayza, F., Rivera, R., Villacís, J., Reyes, J. y Garzón, D. (2016). *Frecuencia de Leishmaniasis cutánea en población no seleccionada de residentes de Quito atendidos en el Laboratorio de Microbiología-INSPI entre enero 2014 y diciembre 2015*. https://www.researchgate.net/publication/305040304_Frecuencia_de_Leishmaniasis_cutanea_en_poblacion_no_seleccionada_de_residentes_de_Quito_atendidos_en_el_Laboratorio_de_Microbiologia_-_INSPI_entre_Enero_2014_y_Diciembre_2015?channel=doi&linkId=577fa55c08ae69ab88240324&showFulltext=true

Vargas, O. (2021). *Determinación de Leishmania spp. en perros (Canis Lupus Familiaris) residentes en zonas tropicales de la provincia de Pichincha* (Tesis de pregrado), Universidad de Cuenca. Cuenca. https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/36958/1/Trabajo%20de%20Titulacion.pdf

Xiao, Y. e Isaacs, S. (2012). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and blocking with bovine serum albumin (BSA)--not all BSAs are alike. *Journal of immunological methods*, *384*(1-2), 148-151. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.06.009

Yanez, R., Quitón, R., Rojas, E., Vargas, T., Eid, D., Letesson, J. y Rodríguez, P. (2025). Conocimientos, prácticas y seroprevalencia humana de brucelosis en la zona lechera central de Cochabamba, Bolivia. *Revista Panamericana de Salud Pública*, *49*. e5.

https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/64099/v49e52025.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Zhao, Q., Lu, D., Zhang, G., Zhang, D. y Shi, X. (2021). Recent improvements in enzyme-linked immunosorbent assays based on nanomaterials. *Talanta*, *223.* 121722 (Pt 1). DOI: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121722

7. APÉNDICE/ANEXOS

Anexo 1 *Posición de las mestras en la placa*

PLACA 1

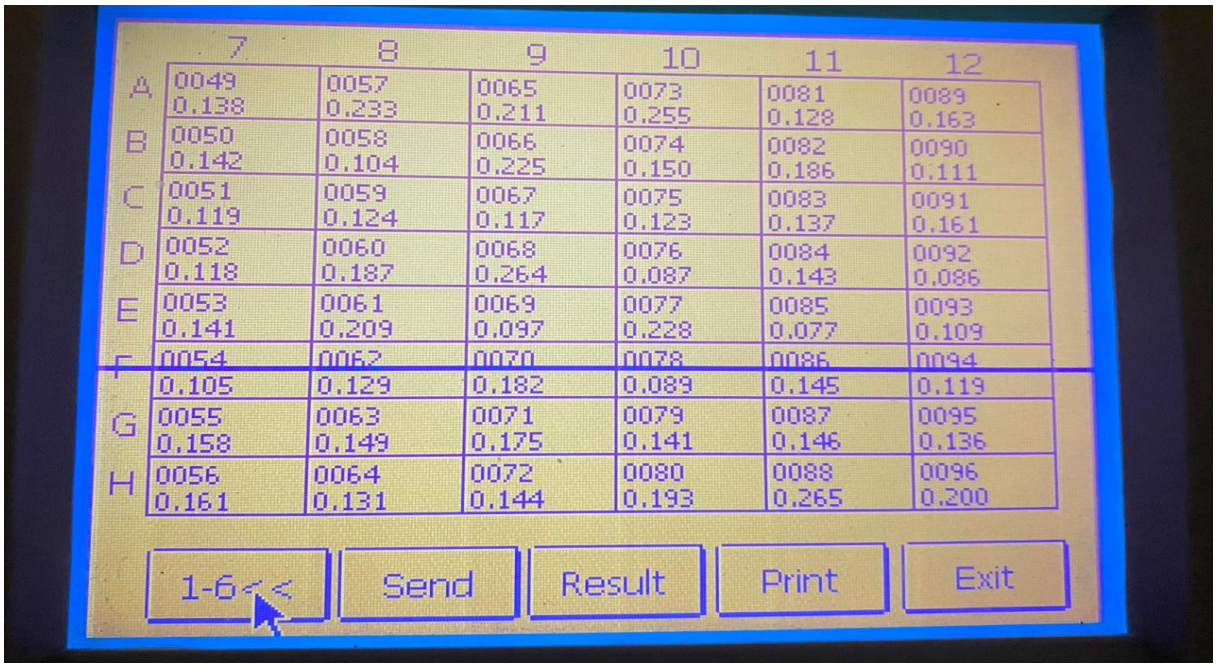
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POSITIVO	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85
B	POSITIVO	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86
C	NEGATIVO	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87
D	NEGATIVO	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88
E	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
F	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
G	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
H	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92

PLACA 2

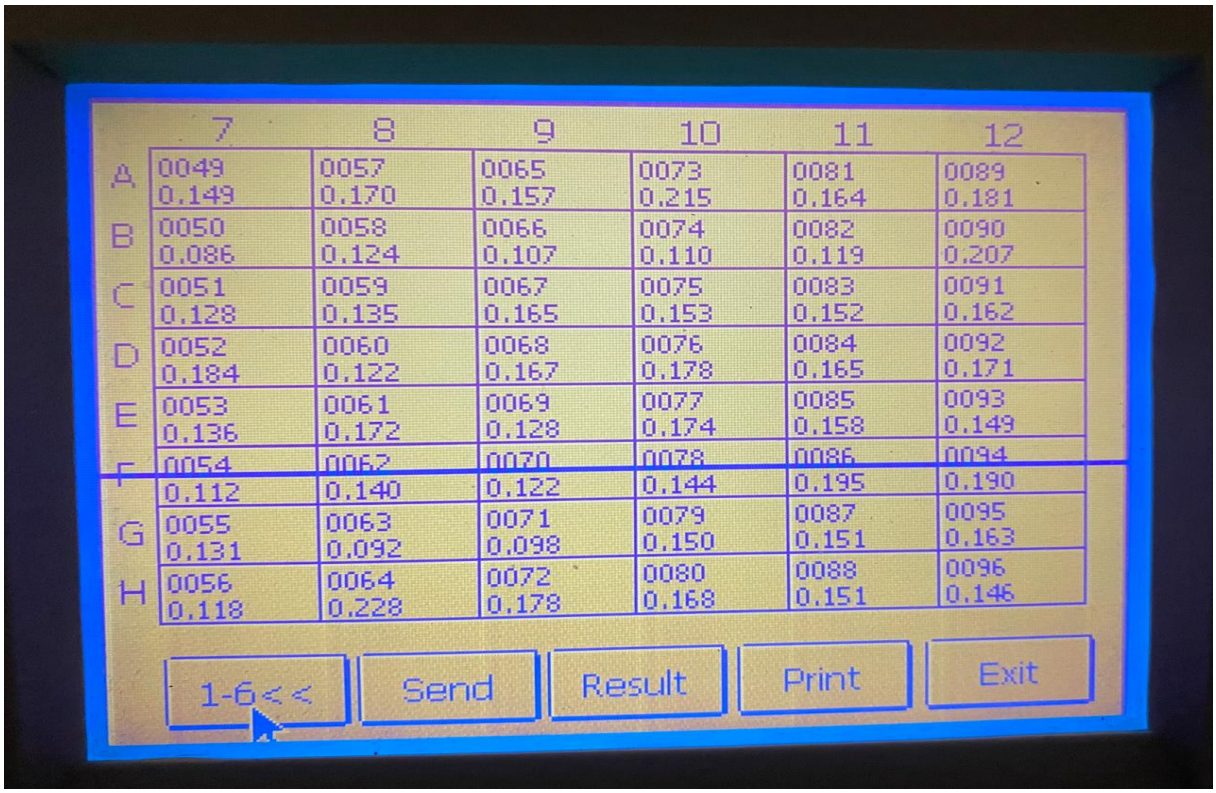
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POSITIVO	97	105	113	121	129	137	145	153	161	169	177
B	POSITIVO	98	106	114	122	130	138	146	154	162	170	178
C	NEGATIVO	99	107	115	123	131	139	147	155	163	171	179
D	NEGATIVO	100	108	116	124	132	140	148	156	164	172	180
E	93	101	109	117	125	133	141	149	157	165	173	181
F	94	102	110	118	126	134	142	150	158	166	174	182
G	95	103	111	119	127	135	143	151	159	167	175	183
H	96	104	112	120	128	136	144	152	160	168	176	184

SANTO DOMINGO | GUAYAS | EL ORO | MANABÍ | ESMERALDAS | LOS RIOS | SANTA ELENA

Anexo 2 *Lectura de la densidad óptica de la placa 1 en el espectrofotómetro*



Anexo 3 *Lectura de la densidad óptica de la placa 2 en el espectrofotómetro*



Anexo 4 *Resultados de la placa 1*

	RESULTADOS PORCENTUAL PUNTO DE CORTE(S/P%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0,488998	21,18989	21,84189	22,330888	11,73594	8,475958	9,127954	24,61288	21,02689	28,19886	7,497963	13,20293
B	0,488998	25,75387	17,76691	26,731866	29,66585	17,11491	9,779951	3,585982	23,30888	11,08394	16,95192	4,726976
C	104,8085	33,41483	43,84678	21,189894	7,171964	9,453953	6,03097	6,845966	5,704971	6,682967	8,964955	12,87694
D	95,19152	23,63488	31,29584	8,4759576	4,563977	8,964955	5,867971	17,11491	29,66585	0,814996	9,94295	0,651997
E	30,31785	10,43195	7,660962	10,105949	8,638957	11,73594	9,616952	20,7009	2,444988	23,79788	-0,814996	4,400978
F	43,68378	8,475958	33,25183	21,026895	4,07498	10,75795	3,748981	7,660962	16,29992	1,140994	10,26895	6,03097
G	59,3317	15,81092	22,65689	13,039935	13,20293	12,22494	12,38794	10,92095	15,15892	9,616952	10,43195	8,801956
H	30,96985	45,47677	11,89894	10,594947	6,682967	5,378973	12,87694	7,98696	10,10595	18,09291	29,82885	19,2339

Anexo 5 *Resultados de la placa 2*

	RESULTADOS PORCENTUAL PUNTO DE CORTE(S/P%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	9,1131	7,323027	10,903173	7,973963	7,973963	11,06591	14,48332	12,36778	21,80635	13,50692	16,27339
B	0	8,787632	20,17901	20,504475	-1,790073	-0,488202	0,81367	6,997559	4,231082	4,719284	6,183889	20,50448
C	104,8007	7,648495	27,99024	1,6273393	2,278275	6,997559	7,648495	8,787632	13,66965	11,71684	11,55411	13,18145
D	95,19935	3,254679	8,950366	17,412531	6,672091	3,091945	16,76159	6,672091	13,99512	15,78519	13,66965	14,64605
E	9,275834	33,52319	4,719284	4,719284	8,29943	2,278275	8,950366	14,80879	7,648495	15,13426	12,53051	11,06591
F	13,99512	5,207486	6,997559	14,157852	1,301871	1,790073	5,044752	9,601302	6,672091	10,25224	18,55167	17,738
G	25,54923	14,15785	17,08706	15,134255	14,15785	7,973963	8,136697	1,790073	2,766477	11,22864	11,39138	13,34418
H	4,231082	10,74044	6,834825	4,0683483	16,27339	3,091945	6,021155	23,92189	15,78519	14,15785	11,39138	10,57771