



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

MODALIDAD: PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador.

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias

Autor:

Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tutor:

Mg. Elsa Janeth Molina Molina

LATACUNGA –ECUADOR

2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador”, presentado por el Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña, para optar por el título magíster en Ciencias Veterinarias.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, marzo, 12, 2021.

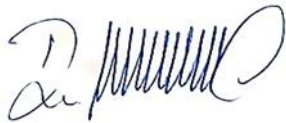


.....
Mg. Elsa Janeth Molina Molina.
C.C. 0502409634

APROBACIÓN TRIBUNAL

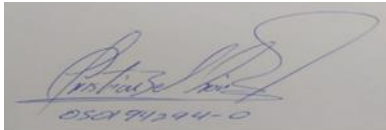
El trabajo de Titulación: “Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador”, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, julio, 28, 2021.

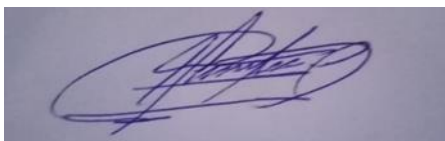


Escaneado con CamScanner

.....
Mg. Jorge Washington Armas Cajas
C.C. 0502409634
Presidente del tribunal



.....
Mg. Cristian Fernando Beltrán Romero
C.C. 0501942940
Lector 2



.....
Mg. Cristian Neptalí Arcos Álvarez
C.C. 1803675634
Lector 3

DEDICATORIA.

El presente trabajo investigativo está dedicado a mi familia, mi esposa Viviana, mis hijos Leah y Axel a mis padres Martha y Jorge y a mis hermanos Dey y Willy que siempre me apoyaron de manera incondicional en el sentido moral y económico lo que me permitió seguir adelante, además de que su influencia me forjo como la persona que soy actualmente, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este.

Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

AGRADECIMIENTO.

En primer lugar, agradezco a la Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme las puertas en la Maestría de Ciencias Veterinarias, así como también a los docentes que impartieron sus valiosos conocimientos en pro de alcanzar todos los objetivos científicos propuestos.

Agradezco también a mi tutora del presente trabajo de investigación, Mg. Elsa Janeth Molina Molina, por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico además de brindarme su tiempo y dedicación en el desarrollo del este estudio.

Finalmente, agradezco a los colegas que compartieron el salón de clase conmigo, por su compañerismo, amistad y apoyo moral que me permitió salir adelante sorteando los inconvenientes que se presentaron a lo largo de la carrera.

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, marzo, 12, 2021.

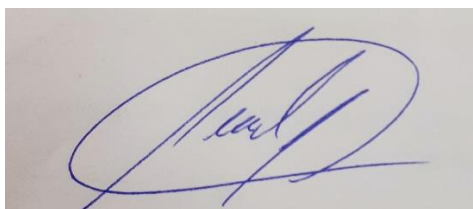
A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Kléber', written in a cursive style.

.....
Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña.
C.C. 050251440-9

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, marzo, 12, 2021.

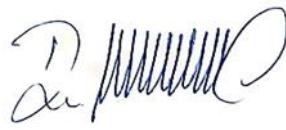
A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Kléber', written in a cursive style.

.....
Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña.
C.C. 050251440-9

AVAL DEL VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador, contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga, julio, 28, 2021.



Escritura con CamScanner

.....
Mg. Jorge Washington Armas Cajas
C.C. 0502409634

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Título: Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador.

Autor: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tutor: Mg. Elsa Janeth Molina Molina

RESUMEN.

La presente investigación tiene la finalidad de determinar Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí – Ecuador, mediante la detección de anticuerpos y antígenos de *Brucella canis* en los animales que son atendidos en el centro perteneciente al Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, para lo cual se muestrearon 316 caninos en edad reproductiva machos y hembras, en el periodo comprendido desde octubre del 2019 hasta diciembre del 2020. Se tomaron muestras sanguíneas en machos y hembras, 216 fueron procesadas in situ bajo la técnica de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA para *Brucella canis* con el test de uso comercial, Bionote, Inc. Anigen Rapid C. *Brucella* AbTest Kit® que se realizó en muestras de sangre entera y 100 muestras de suero sanguíneo se procesaron bajo la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI en un laboratorio certificado; las variables tomadas en cuenta fueron sexo, raza, edad e historial reproductivo, empleándose estadística descriptiva. Para la prueba de **inmunocromatografía de flujo lateral LFIA**, los resultados obtenidos fueron los siguientes: en la variable “**sexo**”, de las 178 hembras muestreadas el 10.67% resulto positivo, de los 38 machos muestreados el 13.15% resulto positivo; en la variable “**raza**”, 165 muestras fueron de animales mestizos de los cuales el 10.30% fue positivo, 51 muestras fueron de animales de otras razas de los cuales el 13.75% fue positivo; en la variable “**edad**”, 102 muestras fueron de caninos de 1-2 años el 11.76% fue positivo, 93 muestras fueron de caninos de 2-5 años el 10.75% fue positivo, 21 muestras fueron de caninos mayores a 5 años el 9.52% fue positivo; para la variable “**historial reproductivo**”, 201 animales se consideró normal de estos el 8.45% fueron positivos, 15 animales se les consideró anormal de estos 46.66% fueron positivos. Para la prueba de **inmunofluorescencia indirecta IFI**, los resultados obtenidos fueron los siguientes: en la variable “**sexo**”, de las 81 hembras muestreadas el 14.81% resulto positivo, de los 19 machos muestreados el 10.52% resulto positivo; en la variable “**raza**”, 71 muestras fueron de animales mestizos de los cuales el 15.49% fue positivo, 29 muestras fueron de animales de otras razas de los cuales el 10.34% fue positivo; en la variable “**edad**”, 51 muestras fueron de caninos de 1-2 años el 9.80% fue positivo, 40 muestras fueron de caninos de 2-5 años el 17.50% fue positivo, 9 muestras fueron de caninos mayores a 5 años el 22.22% fue positivo; para la variable “**historial reproductivo**”, 94 animales se consideró normal de estos el 14.89% fueron positivos, 6 animales se les consideró anormal en y estos no hubo casos positivos.

Palabras clave: *Brucella canis*, perros, prevalencia, zoonosis.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Title: Prevalence of canine brucellosis in the Canine and Feline Sterilization Center of the Pujilí canton - Ecuador.

Author: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tutor: Mg. Elsa Janeth Molina Molina

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the prevalence of canine brucellosis in the Center for Canine and Feline Sterilization of the Pujilí canton - Ecuador, by detecting antibodies and antigens of *Brucella canis* in the animals that are cared for in the center belonging to the Decentralized Autonomous Government. Municipal Intercultural of the Pujilí canton, Cotopaxi province, for which 316 male and female canines of reproductive age were sampled, in the period from October 2019 to December 2020. Blood samples were taken in males and females, 216 were processed in situ under the LFIA lateral flow immunochromatography technique for *Brucella canis* with the commercial use test, Bionote, Inc. Anigen Rapid C. Brucella AbTest Kit® that was performed on samples whole blood and 100 blood serum samples were processed under the indirect IFI immunofluorescence technique in a certified laboratory; the variables taken into account were sex, race, age and reproductive history, using descriptive statistics.

For the **LFIA lateral flow immunochromatography test**, the results obtained were the following: in the variable “**sex**”, of the 178 sampled females 10.67% were positive, of the 38 sampled males 13.15% were positive; In the variable “**race**”, 165 samples were from crossbred animals of which 10.30% were positive, 51 samples were from animals of other races of which 13.75% were positive; In the variable “**age**”, 102 samples were from canines of 1-2 years, 11.76% were positive, 93 samples were from canines of 2-5 years, 10.75% were positive, 21 samples were from canines older than 5 years, 9.52 % was positive; for the variable “**reproductive history**”, 201 animals were considered normal, of which 8.45% were positive, 15 animals were considered abnormal, 46.66% were positive. For the **indirect IFI immunofluorescence test**, the results obtained were the following: in the variable “**sex**”, of the 81 sampled females, 14.81% were positive, of the 19 sampled males, 10.52% were positive; In the variable “**race**”, 71 samples were from crossbred animals of which 15.49% were positive, 29 samples were from animals of other races of which 10.34% were positive; In the variable “**age**”, 51 samples were from canines of 1-2 years, 9.80% were positive, 40 samples were from canines of 2-5 years, 17.50% were positive, 9 samples were from canines older than 5 years, on 22.22 % was positive; for the variable “**reproductive history**”, 94 animals were considered normal, of which 14.89% were positive, 6 animals were considered abnormal in and there were no positive cases.

Key words: *Brucella canis*, dogs, prevalence, zoonosis.

Mg. Emma Jackeline Herrera Lasluisa con cédula de identidad número: 0502277031 Licenciada en: Ciencias de la Educación Mención inglés con número de registro de la SENESCYT: 1010-05-570622; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: **Prevalencia de brucelosis canina en el Centro de Esterilización Canina y Felina del cantón Pujilí - Ecuador.** De Kléber Paúl Páez Calvopiña, aspirante a magister en **Ciencias Veterinarias.**

Latacunga, julio del 2021

Atentamente,



Mg. Emma Jackeline Herrera Lasluisa
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C 0502277031



**CENTRO
DE IDIOMAS**

Firmado electrónicamente por:
MARCO PAULBELTRAN SEMBLANTES

INDICE DE CONTENIDOS:

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	5
1.2 Planteamiento del problema	6
1.3 Hipótesis	7
1.4 Objetivos de la Investigación.....	7
1.4.1 Objetivo General	7
1.4.2 Objetivos Específicos	8
TITULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	9
CANINO DOMÉSTICO	9
Información taxonómica:	10
BRUCELOSIS CANINA (<i>Brucella canis</i>)	11
Importancia	11
Distribución geográfica	11
Etiología	11
Epizootiología	12
Patogenia	12
Respuesta Inmune	12
Formas de difusión	13
Período de incubación	14
Signos clínicos y patológicos	14
Lesiones Anatomopatológicas	16
Morbilidad y mortalidad	16
Respuesta inmunitaria	17
Diagnóstico	17
Tratamiento	36

Control.....	37
Transmisión a personas	38
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
Investigación descriptiva.....	42
Lugar del estudio (Área de la investigación)	42
Población y muestra	42
Recopilación de datos.....	43
Procesamiento de muestras.....	43
Análisis estadístico.....	50
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
RESULTADOS	51
ANÁLISIS DE DATOS	54
DISCUSIÓN:.....	72
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	80
5.1 CONCLUSIONES	80
5.2 RECOMENDACIONES	80
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
CAPÍTULO VII. ANEXOS	102

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Información taxonómica del camino domestico.....</i>	10
<i>Tabla 2. Población y muestra de caminos sometidos a las pruebas de Brucella canis</i>	42
<i>Tabla 3. Carateristicas de inmunocromatografia de flujo lateral LFIA</i>	45
<i>Tabla 4. Población según las diferentes variables que fue sometida la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA.....</i>	52
<i>Tabla 5. Resultados de la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA</i>	53
<i>Tabla 6. Población según las diferentes variables que fue sometida la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI</i>	53
<i>Tabla 7. Resultados de la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI.....</i>	54
<i>Tabla 8. Categoría.....</i>	54
<i>Tabla 9. Sexo</i>	55
<i>Tabla 10. Partos/montas</i>	56
<i>Tabla 11. Raza.....</i>	57
<i>Tabla 12. Edad</i>	58
<i>Tabla 13. Resultados de la prueba de brucelosis mediante el test de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA.....</i>	59
<i>Tabla 14. Resultados de la prueba de brucelosis mediante el test de inmunofluorescencia indirecta IFI</i>	61
<i>Tabla 15. Prevalencia de brucelosis canina</i>	62
<i>Tabla 16. Prevalencia de brucelosis canina en función del sexo.....</i>	63
<i>Tabla 17. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y sexo</i>	64
<i>Tabla 18. Prevalencia de brucelosis canina en función de la raza.....</i>	64
<i>Tabla 19. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y raza</i>	66
<i>Tabla 20. Prevalencia de brucelosis canina en función de la edad</i>	67

<i>Tabla 21. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y edad</i>	69
<i>Tabla 22. Prevalencia de brucelosis canina en función del historial reproductivo</i>	70
<i>Tabla 23. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina e historial reproductivo</i>	71

INDICE DE GRÁFICOS

<i>Ilustración 1. Estructura de las inmunoglobulinas</i>	18
<i>Ilustración 2. Estructura de las inmunoglobulinas</i>	19
<i>Ilustración 3. Epitope.....</i>	20
<i>Ilustración 4. Determinantes antigénicos</i>	20
<i>Ilustración 5. Ruta diagnóstica por métodos de laboratorios convencionales</i>	22
<i>Ilustración 6. Simplificación del proceso de pruebas clínicas en situaciones ambulatorias utilizando dispositivos de análisis POC frente a métodos de laboratorio</i>	23
<i>Ilustración 7. Principales ensayos para la determinación de proteínas</i>	24
<i>Ilustración 8. Tira de ensayo.....</i>	25
<i>Ilustración 9. Inmunoensayo de flujo lateral</i>	26
<i>Ilustración 10. Ensayos competitivos positivos.....</i>	27
<i>Ilustración 11. Ensayos competitivos negativos.....</i>	27
<i>Ilustración 12. Ensayos sandwich positivos.....</i>	28
<i>Ilustración 13. Ensayos sandwich negativos.....</i>	28
<i>Ilustración 14. Proceso de permeabilización en la prueba de inmunofluorescencia.....</i>	31
<i>Ilustración 15. Diferencia entre inmunofluorescencia directa e indirecta.....</i>	32
<i>Ilustración 16. Esquema inmunofluorescencia directa</i>	33
<i>Ilustración 17. Esquema injkunofluorescencia indirecta</i>	36

<i>Ilustración 18. Resultado negativo - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA</i>	46
<i>Ilustración 19. Resultado positivo - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA</i>	47
<i>Ilustración 20. Resultado inválido - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA</i>	47
<i>Ilustración 21. Patrón de fluorescencia - Prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI</i>	49
<i>Ilustración 22. Gráfico circular de la categoría de los caminos</i>	55
<i>Ilustración 23. Gráfico circular del sexo de los caninos</i>	56
<i>Ilustración 24. Gráfico circular de los partos/montas</i>	57
<i>Ilustración 25. Gráfico circular de la raza de los caninos</i>	58
<i>Ilustración 26. Histograma de la edad de los caninos</i>	59
<i>Ilustración 27. Gráfico circular de los resultados de la prueba de Brucella canis mediante el test de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA</i>	60
<i>Ilustración 28. Gráfico circular de los resultados de la prueba de Brucella canis mediante el test de inmunofluorescencia indirecta IFI</i>	61
<i>Ilustración 29. Gráfico circular de la prevalencia de la Brucella canis en el total de la población de estudio</i>	62
<i>Ilustración 30. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de Brucella canis por sexo del total de la población en estudio</i>	63
<i>Ilustración 31. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de Brucella canis por raza del total de la población en estudio.</i>	66
<i>Ilustración 32. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de Brucella canis por edad del total de la población en estudio</i>	69
<i>Ilustración 33. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de Brucella canis por historial reproductivo del total de la población en estudio</i>	71

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo de investigación tiene una línea de investigación en Salud Animal y la sub línea de investigación en Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad animal.

Está enfocado en determinar la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en la población canina que es atendida en el Centro de Esterilización del Gobierno Autónomo Descentralizado Intercultural del cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, desde el mes de octubre del 2019 hasta diciembre del 2020.

La brucelosis canina es una enfermedad infecto contagiosa, de curso sub agudo o crónico, es producida por una bacteria denominada *Brucella canis*, produce falla reproductiva e infertilidad tanto en hembras como en machos, además de otros trastornos en tejidos y órganos; la respuesta inmune adaptativa contra esta bacteria involucra la aparición de anticuerpos detectables a partir de las dos semanas post infección (1).

Entre caninos la transmisión de la enfermedad puede ser vertical u horizontal, la vía sexual es la más común, aunque no se descartan las vías oral, nasal o conjuntival, por placenta o a través de la lactancia, los machos infectados diseminan el microorganismo al medio ambiente, pudiendo contaminar a animales susceptibles por un lapso prologado que puede variar desde los de 4 a 6 meses hasta varios años, probablemente por contaminación de la orina con fluidos seminales. (2).

La eliminación de *Brucella canis* en las descargas vulvares de las perras infectadas aumenta durante el estro, parto, posparto o posaborto, el material abortado posee alta carga bacteriana (10¹⁰ bacterias/mL), la excreción de bacterias puede ser de forma continua o intermitente (3).

Todos los cánidos, en los que se incluye el perro doméstico, son considerados los únicos huéspedes verdaderos de la *Brucella canis*, sin embargo, por su carácter zoonótico ésta puede transmitirse al hombre y causarle el padecimiento (4).

Brucella canis es una bacteria del género *Brucella*, al igual que *B. suis*, *B. abortus* y *B. melitensis*, son los principales agentes etiológicos de la brucelosis humana, *Brucella canis* tiene como afinidad los tejidos de los órganos reproductivos en consecuencia los animales adultos con vida sexual activa y en estado de preñez son los más susceptibles a la infección; la distribución de esta patología es mundial, aunque la brucelosis en perros también puede ser ocasionada por *Brucella abortus*, *melitensis* y *suis*, lo que ha interferido con el diagnóstico en varias ocasiones (5, 6).

Brucella canis es un patógeno intracelular facultativo, este microorganismo que ocasionalmente se asocia a otras especies de *Brucella* con la enfermedad en los perros es un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo; el género *Brucella* incluye seis especies descubiertas y que fueron denominadas principalmente sobre la base de la especificidad de la especie huésped: *B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. neotomae* y *B. suis*. (7).

Se debe considerar también que algunas de estas especies presentan biotipos, *Brucella melitensis* presenta 3 biotipos, *B. abortus* 9 biotipos, *B. suis* 4 biotipos, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae* no tienen biotipos específicos; también existen aislamientos de nuevas especies de *Brucella* a partir de mamíferos marinos, ratones de campo y otras especies (8,9).

Los animales infectados eliminan las bacterias a través de secreciones vaginales, semen, sangre, orina y heces contaminando el agua y el medio ambiente donde habitan, de esta forma se completa el ciclo vital de la bacteria, por medio de la infección a otros animales el germen persiste en la naturaleza; en el ambiente pueden sobrevivir y mantener la capacidad infectante en periodos variables de tiempo dependiendo de las condiciones sanitarias del lugar donde habiten los huéspedes (10).

El síntoma principal de la brucelosis en las hembras es el aborto que ocurre generalmente al final de la preñez, aunque se han visto casos en los que el aborto se produce en cualquier etapa de la gestación; si ésta llega a término las crías suelen

nacer tan débiles que sobreviven poco tiempo o nacer muertas, en los machos la infección causa aumento o atrofia testicular, epididimitis unilateral o bilateral, inflamación de ganglios periféricos, inflamación de la próstata y esterilidad, aunque también puede producir esplenitis, linfadenopatía, discoespondilitis y uveítis anterior (2).

La infección por *Brucella canis* produce infertilidad en perros y aborto en las perras puede además infectar al ser humano, por la naturaleza contagiosa de la enfermedad representa un riesgo sanitario para los propietarios de animales de compañía; el diagnóstico serológico de la brucelosis canina es el método más empleado y con el que obtienen resultados confiables y de relevancia dentro de cualquier estudio al respecto (11,12).

La brucelosis canina es una enfermedad de importancia en salud pública puesto que se considera de carácter zoonótica y sobre la cual existe desconocimiento y muy poca información a nivel local; el hombre es susceptible a la infección por *Brucella canis*, aunque no es frecuente y habitualmente se trata de casos leves con buena respuesta al tratamiento (13).

Brucella canis está presente en todo el mundo llegando a una prevalencia que varía entre 5 y 30% dependiendo de la región considerada para su estudio, razón por la cual su control es prácticamente imposible, es indispensable controlar a esta bacteria mediante exámenes de diagnóstico periódico en los animales, especialmente en los centros donde están reclusos, albergues, veterinarias, entre otros, además de los animales que deambulan de forma libre o callejeros (14, 15).

Dado que *Brucella canis* es un microorganismo bacteriano de vida intracelular y posee la capacidad de multiplicarse dentro de las células, una vez ocurrida la exposición de un animal sano, este individuo permanecerá infectado de por vida; a través del tratamiento antibiótico se elimina solamente las bacterias circulantes en el organismo del huésped, por lo que, una vez que se suspende la antibioticoterapia sucede una reinfección generalizada, convirtiendo a este animal en un vector de la enfermedad por lo tanto la infección continuará dentro de la población (16).

Otra situación que agrava el problema de la transmisión de la enfermedad es que en caso de perras que han sido tratadas con drogas antimicrobianas después de varios

abortos pueden tener un alto porcentaje de camadas normales, incluso se pueden presentar falsos negativos en estos animales, sin embargo el microorganismo sigue infectante dentro de las células; mientras que los machos permanecerán infértiles debido al daño irreparable ocurrido en los testículos; es de vital importancia tener en cuenta que la terapia antibiótica no elimina el estado portador (3, 15).

La brucelosis en nuestro país es una enfermedad sub declarada debido a la dificultad en el diagnóstico y la sintomatología inespecífica que presenta; estudios recientes han identificado sólo a *Brucella abortus* asociado con la enfermedad en animales y personas, sin embargo, se plantea de que otras especies de *Brucella* deben estar presentes en Ecuador como es el caso de *Brucella canis* aunque estos microorganismos no han sido detectados por baja prevalencia y dificultades metodológicas en el diagnóstico (17).

Si los perros seropositivos no son aislados del resto de la población, la infección se disemina rápidamente; la bacteriemia persiste en el animal por largos períodos que pueden prolongarse durante años; el control de la enfermedad incluye esterilización de los animales con el fin de disminuir el contagio vía sexual, cuarentena con seguimiento serológico de los sospechosos y eutanasia de los animales enfermos (18,19).

Los métodos diagnósticos utilizados en este estudio se basan en el relevamiento serológico, estos permiten conocer la presencia del microorganismo en un individuo y determinar la circulación de un patógeno dentro de una población de riesgo, esto permite adecuar las medidas de prevención y control (20).

La Organización Mundial de la Salud OMS establece que el 60-65% de las enfermedades que afectan al humano son de carácter zoonótico como es el caso de la brucelosis canina, esta es una enfermedad de declaración obligatoria en algunos países por lo que se debe consultar a las entidades de control estatales para obtener lineamientos específicos de prevención y control; la población infantil está más expuesta a infectarse debido a la exposición mediante la convivencia y el juego, también por los animales callejeros infectados (1).

La transmisión a humanos puede ocurrir al tener contacto con secreciones de animales infectados como descargas vaginales, semen, restos placentarios, fetos

abortados, orina, entre otras; así como también al estar expuesto accidentalmente a la bacteria en el laboratorio o centros de acogida de perros (21).

El tratamiento antimicrobiano ha presentado resultados inconclusos por su alta proporción de recaídas, esto se atribuye a la localización intracelular del microorganismo y a la capacidad del patógeno para permanecer en los nódulos linfáticos y el tejido prostático en donde los niveles de los agentes antimicrobianos no tienen alcance terapéutico; el control de la infección por *Brucella canis* en perros se realiza mediante la detección oportuna de los animales infectados seguida por la eliminación del individuo seropositivo. (82).

Por este motivo se debe promover en los propietarios de los caninos que realicen controles periódicos a sus mascotas para brucelosis puesto que el riesgo de contagio hacia las personas aumenta alrededor de un 7,5 % cuando hay la presencia de animales infectados dentro de los hogares, por lo tanto, debe ser evaluado el potencial zoonótico emergente de esta enfermedad especialmente en las zonas urbanas donde existe proliferación de animales callejeros y donde se crea la necesidad de coordinar los sistemas de vigilancia de brucelosis canina (108).

Las infecciones declaradas zoonóticas por la Organización Internacional de Epizootias (OIE) ameritan medidas específicas de diagnóstico, prevención y control, para lo cual se evalúan diferentes aspectos que orientan la identificación de riesgo de infección que por lo general está condicionado a la exposición (22).

La normativa nacional a través del Código Orgánico Ambiental COA; Título VII, Capítulo I, Sección I y su Reglamento; delega la competencia a los Gobiernos Autónomos Descentralizados sobre la temática del control de la fauna urbana en lo que se incluye el seguimiento y control de enfermedades infectocontagiosas, especialmente las de carácter zoonótico es decir enfermedades que se transmiten de animales a las personas como es el caso de la brucelosis canina. (23).

1.1 Justificación

En el cantón Pujilí han sido detectados varios casos sospechosos de brucelosis canina, por la sintomatología que presentaron los animales, sin embargo, son casos sin confirmar debido a que no se realizaron pruebas de diagnóstico adecuadas que identifiquen efectivamente el patógeno, y que fueron tratados de forma paliativa

descuidando la parte zoonótica de esta problemática; aunque existe dificultad moderada para la obtención de métodos diagnósticos de elevada precisión para esta enfermedad, la falta de costumbre en utilizarlos en las actividades veterinarias diarias de la mayoría de profesionales hace muy difícil establecer la verdadera prevalencia de brucelosis canina.

Esta enfermedad es considerada de carácter zoonótico y de gran importancia en la salud pública, sin embargo se conoce muy poco acerca de la prevalencia de la misma en nuestro sector, situación por la cual se desconoce también el riesgo de contagio hacia la población humana, esto debido a que es una enfermedad que tiene varios síntomas que hacen que su diagnóstico clínico no sea específico e infortunadamente las pruebas de identificación de la enfermedad son muy poco utilizadas, esto sumado a que las leyes sanitarias existentes no son aplicadas de forma adecuada por lo que el control de esta enfermedad es inadecuado.

En tal sentido investigar la prevalencia de brucelosis canina es un aporte al conocimiento de la situación de la enfermedad en el cantón y en base a la cual se pueden encaminar las medidas sanitarias de prevención y control.

1.2 Planteamiento del problema

La brucelosis canina es una enfermedad bacteriana producida por *Brucella canis* que es considerada de carácter zoonótico, es decir, que puede ser transmitida a los seres humanos, cuando un animal ha sido infectado por esta bacteria se convierte en un vector de la enfermedad de forma permanente siendo las secreciones las principales fuentes de contagio, entre estas: saliva, orina, heces, sangre, semen, leche, etc. (130).

La bacteria tiene resistencia a las condiciones ambientales, a temperaturas bajas puede sobrevivir semanas hasta meses, esto le permite diseminarse entre los individuos que están en contacto con estas secreciones (131).

La mayor afectación se produce en el sistema reproductivo, en consecuencia, los animales adultos con vida sexual activa son los más propensos a la infección, aunque en realidad todo animal expuesto a las secreciones contaminadas tiene

riesgo de contagio, esto incluye a las personas que tienen contacto directo con los animales (132).

En el cantón Pujilí se han detectado casos sospechosos a la enfermedad, sin que sean reportados en forma oficial, pero que generan preocupación a nivel local especialmente en las instituciones cuya actividad es la salud pública, sin embargo de esta problemática no existen estudios oficiales que demuestren la verdadera magnitud de la prevalencia de esta enfermedad ni que identifiquen a los individuos predisponentes a ser contagiados por lo que los planes de contingencia existentes no son efectivos y en el caso de Pujilí aún no son implementados.

En vista de lo mencionado, se hace necesario que exista una base de datos real disponible para las instituciones públicas y poder actuar de forma efectiva para controlar la diseminación de la enfermedad.

¿Cuál es la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) presente en una muestra de animales, en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Intercultural Municipal del Cantón Pujilí desde octubre del 2019 a diciembre del 2020? esta interrogante planteada constituye la **formulación del problema.**

1.3 Hipótesis

¿Existe prevalencia de *Brucella canis* (brucelosis canina) en los animales que son atendidos en el Centro de esterilización canina y felina del GADMICP en el período comprendido entre octubre del 2019 hasta diciembre del 2020?

1.4 Objetivos de la Investigación

1.4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en el Centro de Esterilización del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en una muestra de la población que es atendida en el Centro de Esterilización.
- Identificar población canina con brucelosis mediante el test kit Anigen Rapid C. *Brucella* Ab y la prueba de laboratorio de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).
- Establecer la prevalencia de brucelosis canina de acuerdo a las variables sexo, raza, edad e historial reproductivo.

TITULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

CANINO DOMÉSTICO

Posiblemente el perro es el primer animal que fue domesticado por la humanidad, esto ha permitido que se encuentre en diferentes hábitats de todo el mundo, debido a su relación estrecha con los seres humanos, proviene de grupo ancestral común que vivió aproximadamente hace treinta mil años y desde entonces se ha distribuido a todas partes del planeta (24).

Los primeros restos fosilizados de caninos enterrados junto con personas fueron encontrados en Israel y datan aproximadamente de hace unos doce mil años, desde entonces, los perros y los humanos han evolucionaron de forma conjunta en todas las culturas del planeta, siendo en la mayoría de los casos interdependientes (25, 26).

Los perros comparten el entorno, hábitos y estilo de vida de los humanos, como las dietas en base a cereales y almidón; en comparación con lobos de tamaño equivalente, los perros tienden a tener el cerebro un 10% más pequeño y el cráneo en un 20% más reducido, además de tener los dientes relativamente más pequeños que otras especies de cánidos (27, 28, 29).

En los perros, la madurez sexual comienza a producirse a la edad de entre seis y dos años dependiendo de la raza y tamaño, tanto en los machos como en las hembras, la adolescencia de la mayoría de los animales dura entre los doce y los quince meses de edad, alcanzada la madurez sexual permanecen reproductivamente activos durante toda su vida (30, 31).

El celo se presenta dos veces por año en las hembras, la gestación dura 63 días aproximadamente con un rango que va de los 58 a los 68, una camada promedio se compone de alrededor de seis cachorros (28, 32, 33, 34).

Información taxonómica:

Tabla 1. Información taxonómica del camino domestico

Dominio	Eucarya (Eukaryota)	Organismos celulares con núcleos verdaderos
Reino	Animalia	Capacidad de locomoción, consumen oxígeno, nutrición por ingestión, reproducción sexual y desarrollo embrionario.
Subreino	Eumetazoa	Presentan tejidos, órganos, masa corporal, ej. Músculos, nervios
Filo	Chordata	Existencia de cuerda dorsal
Subfilo	Vertebrata	Animales con columna vertebral
Clase	Mammalia	Presentan glándulas mamarias, pelo y mandíbulas
Subclase	Theria	El embrión se forma en el útero materno
Infraclase	Placentalia	Las crías permanecen en el útero materno por largo tiempo
Orden	Carnívora	Los molares están adaptados para el consumo de carne
Suborden	Caniformia	Forma de perro
Familia	Canidae	Cánidos: lobos, coyotes, zorros, chacales y otras afines
Subfamilia	Caninae	Única subfamilia superviviente de la familia
Género	Canis	Lobos, chacales y coyotes
Especie	<i>Canis lupus</i>	Lobos y perros

Elaborado por o fuente: Maqueda A. Taxonomía del perro doméstico

BRUCELOSIS CANINA (*Brucella canis*)

Importancia

La brucelosis canina causada por *Brucella canis*, es una causa importante de falla reproductiva en perros, causando abortos, muerte fetal, epididimitis, orquitis y anomalías espermáticas, aunque es zoonótica, la enfermedad rara vez aparece en humanos, descrita en 1966, se le asoció con abortos y problemas reproductivos, es una enfermedad de curso subagudo o crónico, contagiosa e infecciosa, produce infertilidad tanto en machos como en hembras y por su naturaleza zoonótica presenta un riesgo sanitario para las personas que conviven con el animal infectado (36, 37).

La distribución de esta patología es mundial, aunque la brucelosis en perros también puede ser ocasionada por *Brucella abortus*, *melitensis* y *suis*, lo que ha interferido con el diagnóstico en varias ocasiones; *Brucella canis* es un patógeno intracelular facultativo que en el humano se puede presentar la infección y producir cuadros clínicos leves, asintomáticos o graves (5, 12, 38, 39).

Distribución geográfica

La distribución de esta patología es mundial; aunque no se han realizado estudios serológicos en varios países, en todos los que sí, está presente la enfermedad; Nueva Zelanda y Australia parecen estar libres de este microorganismo (40, 41).

Etiología

Brucella canis es un bacilo cocoide Gram negativo pequeño de 0,5 a 0,7 μm de diámetro por 0,5 a 1,5 μm de longitud, inmóvil, aerobio estricto, sin cápsula y no esporulado, no requiere suero ni CO_2 para el crecimiento, no produce H_2S y es oxidasa y ureasa positivo, se distingue por la presencia de ácidos grasos de 19 carbonos (43, 44, 47).

Brucella canis es un patógeno intracelular facultativo, las pruebas inmunológicas y genéticas muestran que todos los miembros del género *Brucella* están relacionados estrechamente y se ha propuesto la reclasificación del género en una especie única (*B. melitensis*) la que presenta varias biovariedades (7, 42).

Epizootiología

Los cánidos son los únicos huéspedes verdaderos de la *Brucella canis*, la enfermedad puede transmitirse en forma vertical u horizontal, a través de la lactancia o por la placenta, la infección ocurre por vía oral o sexual, por contacto directo con secreciones seminales, vaginales y otras, o a través de mucosa oronasal y conjuntival (4, 45).

Los machos infectados diseminan bacterias pudiendo contaminar a machos susceptibles en un lapso de 4 a 6 meses, la excreción de bacterias comienza alrededor de 4 a 8 semanas postinfección de forma intermitente o continua, tanto machos y hembras eliminan la bacteria por las secreciones corporales (46).

Patogenia

Comienza con la penetración del microorganismo a través de una membrana mucosa, ya sea nasal, oral genital o conjuntival, para luego ser fagocitada por los macrófagos, esta bacteria es capaz de sobrevivir y multiplicarse en estas células debido a su característica de inhibir la formación del complejo fagolisosoma, con lo cual inhiben la acción de las enzimas lisosomales (18).

La endocitosis si bien se produce a través de las células blancas y hay degranulación y activación de otras células inmunes, *Brucella canis* es resistente a la acción del peróxido de hidrógeno a partir de sus enzimas superóxido dismutasa y catalasa, que le permiten eliminar los radicales libres (22).

Los ganglios regionales son invadidos produciendo hiperplasia de los mismos, la bacteria se propaga vía linfática y hematogena, la bacteriemia se produce entre 1 a 4 semanas postinfección y puede mantenerse en forma continua o intermitente hasta 64 meses, en este período el patógeno coloniza distintos órganos, tales como próstata, epidídimo, hígado, bazo, en los cuales provoca infiltración de células inflamatorias (48).

Respuesta Inmune

La respuesta inmune adaptativa contra *Brucella canis* implica tres componentes principales, que actúan en diferentes etapas de la infección:

- La generación de una respuesta humoral con elaboración de anticuerpos.

- La activación de la función bactericida de los macrófagos.
- La lisis de células infectadas por linfocitos T (49).

La detección de anticuerpos puede realizarse a partir de las dos semanas postinfección, en la primera fase de la respuesta humoral prevalece la IgM que va siendo gradualmente superada por la IgG que impera en la respuesta crónica (50, 51).

Formas de difusión

Brucella canis se transmite generalmente entre animales por contacto con secreciones de un animal infectado, orina, leche, placenta, líquidos fetales, descargas vaginales, etc, también se eliminan bacterias después de un aborto o de un parto a término (3, 52).

Dos semanas después de la infección se pueden encontrar altas concentraciones de *Brucella canis* en el semen y durante años pueden ocurrir excreciones intermitentes de pequeñas cantidades en la orina, en las heces y secreciones nasal, salival y ocular (53).

En los perros se transmite principalmente por vía oral y venérea, o contacto con el feto y las membranas fetales después de los abortos y fetos muertos y a través de las mucosas genital, oronasal y conjuntival, pero también es posible la transmisión a través de heridas en la piel, se producen infecciones in útero, los cachorros lactantes se pueden infectar por consumir leche contaminada, también se puede propagar por fómites (21, 46, 55, 133).

La bacteria tiene una viabilidad limitada fuera de sus hospederos; la luz solar y condiciones ambientales como el calor y la desecación son factores que inactivan la bacteria en horas, mientras que en condiciones de bajas temperaturas, ausencia de luz solar y humedad elevada este microorganismo puede permanecer viable durante varios meses en sustratos como el suelo, agua, fetos abortados, heces, equipos y vestiduras (54).

Todas las especies de *Brucella spp*, principalmente en la presencia de material orgánico, pueden soportar el secado y pueden sobrevivir en el suelo y el polvo, la supervivencia es mayor con bajas temperaturas, especialmente con temperaturas bajo cero. (134).

Los humanos se suelen infectar por *Brucella canis* al ingerir el organismo, por abrasiones de la piel o por contaminación de las membranas mucosas, la infección por este patógeno requiere el contacto directo con perros infectados o el contacto con cultivos bacterianos contaminados (53).

Período de incubación

El período entre la infección y los síntomas reproductivos varía; los animales suelen desarrollar bacteriemia de 14 a 21 días postinfección, los abortos se producen por lo general entre las últimas semanas de gestación aproximadamente, aunque también hay casos de muerte embrionaria entre dos y tres semanas después de la transmisión por vía sexual (135).

Signos clínicos y patológicos

Los síntomas incluyen infertilidad en ambos sexos, epididimitis en machos, aborto tardío en las perras, linfadenitis generalizada, discoespondilitis y uveítis, aunque la sintomatología clínica en animales infectados puede variar de asintomáticos a presentar cuadros de linfadenopatía, así como pérdidas embrionarias y abortos en hembras y orquitis, epididimitis y atrofia testicular en machos, también se presentan otros síndromes como fiebre ondulante y edema corneal. (18, 56, 57, 151)

Las lesiones características en los machos corresponden a dermatitis escrotal, orquitis unilateral o bilateral, y degeneración testicular; a veces se presenta intolerancia al ejercicio, pérdida de la condición corporal y del pelaje, sin embargo, los signos clínicos varían según el órgano afectado, la pirexia no es común (18, 58, 150).

Las muertes son raras en animales adultos, en los casos de gestación a término, los que sobreviven se encuentran débiles y pueden morir en 1 a 3 días y algunos nacen muertos el aborto tiene una ocurrencia del 75% de los casos, en tanto que en el resto puede ocurrir aborto temprano, con reabsorción embrionaria o expulsión situación puede pasar inadvertida para el dueño del animal que solo nota una falla en la concepción (59, 60, 61, 62, 68).

Así mismo aparecen anomalías en las características del semen y eyaculado, tales como eyaculados sanguinolentos, falta de eyaculación, azoospermia o baja

concentración y motilidad retención de gota citoplasmática proximal, colas enrolladas, células espermáticas inmaduras, y desprendimiento de cabezas se cuentan entre las anormalidades que explican la infertilidad de los machos infectados (22, 45, 63, 149).

La epididimitis y orquitis producen inflamación, dolor o fibrosis que impide la eyaculación normal, lo que explica la azoospermia, en perros azoospermicos la espermatogénesis está alterada en los túbulos seminíferos, llegando hasta la formación de espermaticitos primarios, sin presencia de espermátidas ni espermatozoides, existe presencia de hemosiderófagos en los túbulos seminíferos y glóbulos rojos en el lumen, lo que indicaría alteración de la barrera hematotesticular (64, 152, 153).

Entre los signos y lesiones no reproductivos asociados a la enfermedad los hallazgos más comunes fueron discoespondilitis, uveítis anterior, artritis, dermatitis escrotal, entre otras (65, 67, 154, 155).

Se desencadena una respuesta autoinmune en el animal debido a la alteración de la barrera hematotesticular permitiendo que productos espermáticos pasen a la circulación periférica, lo que explica la autosensibilización del animal enfermo, reacciones de hipersensibilidad tardía y aparición de anticuerpos antiespermáticos, además de perpetuar la orquitis y epididimitis y mantener la azoospermia (24, 66, 148, 157).

Algunos cachorros con infección congénita pueden nacer normales y desarrollar brucelosis posteriormente, otros cachorros nacen débiles y con frecuencia mueren poco tiempo después del nacimiento, los signos clínicos aparecen durante las gestaciones subsiguientes en algunos animales y en otros no se presentan (69).

Se puede producir un aumento de tamaño de los ganglios inguinales superficiales e ilíacos externos después de la transmisión venérea y de los ganglios linfáticos retrofaríngeos después de la infección oral, no obstante, la mayoría de los perros no aparentan estar gravemente enfermos (70).

Además, se han informado signos como endoftalmitis, dermatitis poligranulomatosa, endocarditis y meningoencefalitis, ocasionalmente la discoespondilitis de las vértebras torácicas y/o lumbares puede causar rigidez,

cojera o dolor espinal, mediante estudios radiográficos se diagnosticó osteomielitis en todos los casos (71).

Lesiones Anatomopatológicas

Después del aborto la hembra elimina secreciones vaginales sanguinolentas y mucoides por varios días, las perras infectadas que no han quedado gestantes pueden presentar una vulvitis pasajera acompañada de decaimiento (72).

Se puede observar esplenomegalia, hepatomegalia, están afectados los ganglios linfáticos inguinales y retrofaríngeos, aunque se produce linfadenitis generalizada; en algunos machos infectados se producen orquitis, prostatitis, edema escrotal, epididimitis, atrofia testicular, fibrosis y en las hembras se observan metritis y descargas vaginales (136).

Los cachorros abortados muestran evidencias de infección bacteriana generalizada y suelen estar parcialmente autolisados, las lesiones fetales incluyen líquido peritoneal serosanguinolento, lesiones degenerativas en los riñones, hígado, bazo y los intestinos, hemorragias en la región abdominal edema subcutáneo, congestión subcutánea (137).

Los fetos aparecen edematosos con lesiones renales, hepáticas y ganglionares, el contenido estomacal aparece sanguinolento; se presentan necrosis de las vellosidades coriónicas y coagulaciones focales en la placenta, pareciendo esto ser la causa del aborto; también puede existir la presencia de meningoencefalitis difusa (73).

El examen histopatológico revela granulomatosis e hiperplasia en ganglios linfáticos. La orquitis y epididimitis provocan degeneración tisular, el útero aparece con infiltraciones focales de la lámina propia e hipertrofia del epitelio glandular (74).

Morbilidad y mortalidad

Brucella canis se propaga rápidamente en poblaciones confinadas, si un animal es identificado como seropositivo para este patógeno, existe alrededor de un 75% de

probabilidades de que los otros caninos que habitan junto a él estén contagiados; las infecciones son especialmente comunes en los perros callejeros y salvajes, excepto en el feto y el neonato las muertes son pocos frecuentes. (62).

Respuesta inmunitaria

La respuesta inmune es más débil y de menor duración con la exposición a cepas M- que con la exposición a cepas de campo M+ en los tests de aglutinación, los anticuerpos se hacen detectables a partir de los 15 días postinfección. (75).

Diagnóstico

Clínico

Algunos perros infectados no muestran síntomas o tienen síntomas inespecíficos tales como linfadenitis, se puede considerar que un animal está infectado por brucelosis canina cuando se observan abortos y muertes fetales, especialmente en la última fase de la gestación, aunque puede presentarse en cualquier momento de la gestación, o cuando los machos presentan epididimitis y atrofia testicular (65).

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial incluye las infecciones por herpesvirus canino, *Escherichia coli*, Salmonelosis, Micoplasmosis, estreptococos beta hemolíticos, *Streptomyces spp*, *Campylobacter spp*, *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* (76)

Análisis de laboratorio

Aunque existen varios métodos diagnósticos los estudios serológicos se pueden utilizar para obtener un diagnóstico confiable para la detección de brucelosis canina incluyen las pruebas de aglutinación en tubo, de anticuerpo fluorescente indirecto (IFA), de aglutinación rápida en placa (prueba en placa o RSAT), de inmunodifusión en gel de agar y los ensayos con sustancias inmunoabsorbentes ligadas a enzimas (ELISA) (67).

Se puede aislar *Brucella canis* en diversos medios, tales como el medio modificado de Thayer-Martin o el medio de Farrell, también se pueden utilizar técnicas de

enriquecimiento, las colonias bacterianas son naturalmente mucoides (M) o rugosas (R) y con ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (69).

Con frecuencia se utilizan hemocultivos para detectar *Brucella canis*, las muestras recomendadas durante la necropsia o biopsia incluyen: los testículos, el útero, los ganglios linfáticos, el bazo, médula ósea la próstata y el epidídimo, también se puede identificar en los ojos y en las vértebras afectadas clínicamente (68).

Ya que la base de este estudio se fundamenta en el diagnóstico de *Brucella canis* mediante la identificación de antígenos y anticuerpos debemos primero entender de qué se trata estas moléculas; se entiende como antígeno (Ag) cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cada uno de los componentes del sistema inmunológico, en otras palabras, el antígeno es cualquier molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos y la activación de linfocitos T.

Los anticuerpos (Ac), también conocidos como inmunoglobulinas, son un grupo de moléculas séricas que producen los linfocitos B; los diferentes tipos de anticuerpos tienen una estructura básica común a todos ellos, pero el sitio por el que se unen al antígeno es específico de cada uno; la parte de la molécula que se une al antígeno se denomina región Fab, mientras que la zona que interactúa con otros elementos del sistema inmunológico se denomina región Fc.

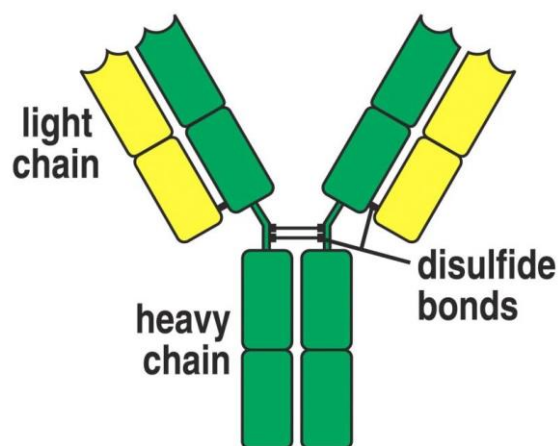


Ilustración 1. Estructura de las inmunoglobulinas

Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

Las inmunoglobulinas se encuentran formadas por 4 cadenas polipeptídicas: 2 cadenas pesadas (H, en verde) y 2 cadenas livianas (L, en amarillo)

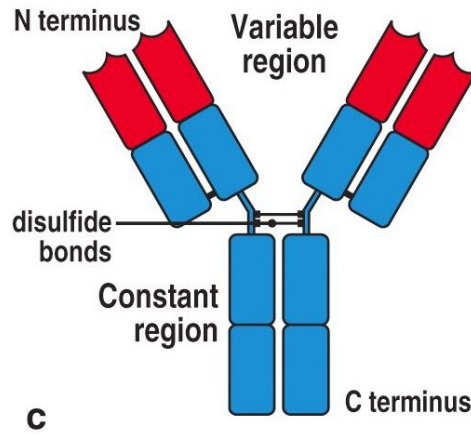


Ilustración 2. Estructura de las inmunoglobulinas

Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

Cada cadena posee regiones variables que permiten el reconocimiento específico de antígenos y otra región Constante.

Los linfocitos B y T están programados genéticamente para codificar y reconocer un receptor de superficie específico de un determinado antígeno, aun antes de haber entrado en contacto con él, tras lo cual se multiplican y se diferencian en células plasmáticas que producen los anticuerpos.

El antígeno es reconocido por la región variable del anticuerpo, la parte del antígeno reconocida se denomina epítopo.

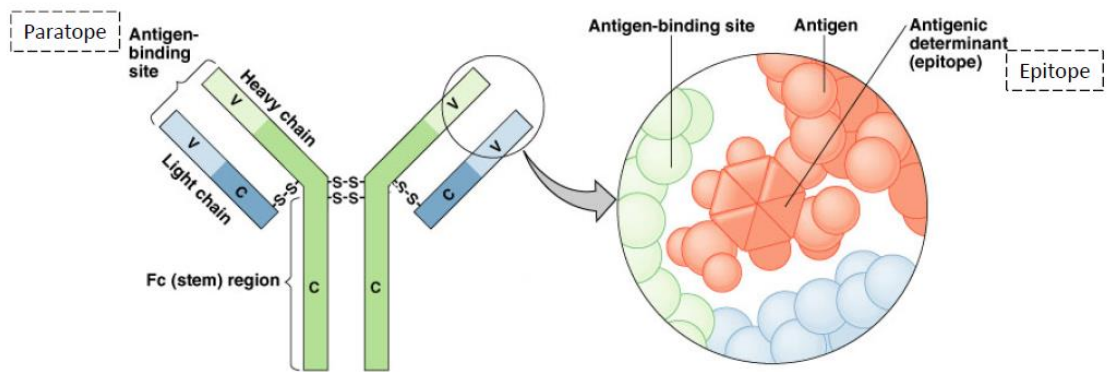


Ilustración 3. Epitope

Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

Cada antígeno suele presentar varios determinantes antígenicos o epitopes.

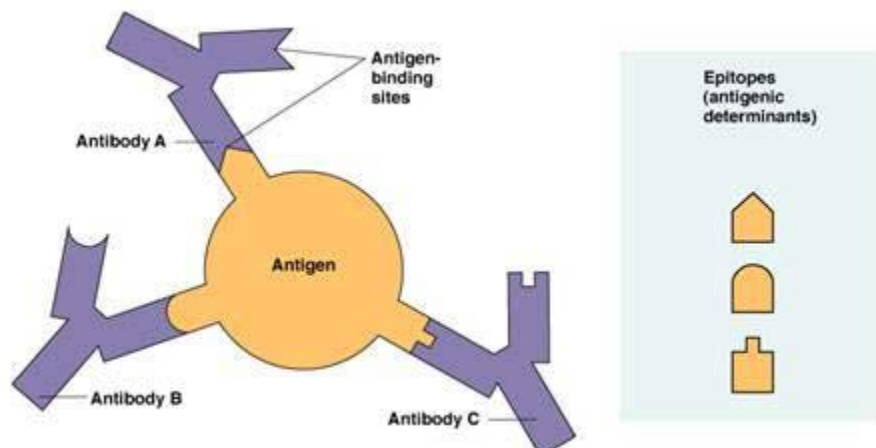


Ilustración 4. Determinantes antígenicos

Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

Cuando se produce el contacto entre el linfocito y el antígeno, los linfocitos que son capaces de reconocerlo empiezan un proceso de proliferación, llamado selección clonal, que conduce en pocos días a la existencia de un número suficiente como para ocasionar una respuesta inmunitaria que permita la eliminación de esta sustancia.

Anticuerpos policlonales; son anticuerpos producidos por diferentes clones de linfocitos, es una mezcla heterogénea de anticuerpos que reconocen distintos epitopes de un mismo antígeno

Anticuerpos monoclonales; son anticuerpos producidos por un único clon de linfocitos, es una población de anticuerpos homogéneos que reconocen el mismo epítipo de un antígeno

Una vez ocurrido el contacto inicial con un antígeno determinado, los sucesivos encuentros con el mismo antígeno se van a caracterizar por obtener una respuesta mucho más rápida y enérgica que la inicial, debido a que esta da lugar a la producción de linfocitos T y B de memoria.

Los anticuerpos se unen a los agentes patógenos o antígenos en el espacio extracelular, y aseguran la protección del organismo mediante tres procesos:

1. Pueden neutralizar al patógeno o a sus productos tóxicos adhiriéndose a ellos e impidiendo la infección o la toxicidad.
2. Pueden facilitar la captura de los patógenos por las células fagocíticas (opsonización).
3. Pueden activar el sistema de complemento, constituido por una serie de proteínas plasmáticas que ayudan a los fagocitos a ingerir y destruir las bacterias. Todos los patógenos y partículas extrañas unidas a anticuerpos finalizarán en poder de los fagocitos, que los destruirán. El sistema de complemento y los fagocitos no reconocen al antígeno; son los anticuerpos los que les señalan su existencia.

Inmunidad innata y adquirida; este concepto de inmunidad innata se refiere a aquella con la cual nace el individuo; la adquirida, en tanto, tiene relación con aquella que se logra a través de la vida y que, de acuerdo a la forma en que se obtenga, puede ser natural, cuando el individuo sufre una enfermedad y crea anticuerpos; o artificial, que se logra mediante la inmunización por medio de vacunas o sueros.

PRUEBA DE INMUNOCROMATOGRAFÍA; INMUNOENSAYO DE FLUJO LATERAL (LFIA)

En cuanto a la primera prueba realizada en este estudio; existen muchos métodos basados en inmunoensayos y distintos principios fisicoquímicos, sin embargo, la elección del método depende no sólo del rango de concentraciones a cubrir y de la naturaleza del analito, sino también del lugar donde es conveniente realizar el análisis: laboratorio central o lugar cercano al paciente, los **dispositivos de diagnóstico** de punto de atención o para uso descentralizado, se denominan **“Point Of Care” (POC)** (77).

Para el desarrollo de estos dispositivos lo que se prioriza es la necesidad de adaptación a un perfil de usuario no especializado en análisis de laboratorio y la portabilidad del dispositivo siempre que se consiga una selectividad y sensibilidad adecuadas para tener un diagnóstico acertado y poder tomar decisiones inmediatas sobre el problema clínico a resolver (78).

Otras características tomadas en consideración para la elaboración de este tipo de dispositivos de análisis son: portátiles, de fácil uso, rápidos, baratos, sensibles y en muchos casos, desechables (79).

Las ventajas de la utilización de estos dispositivos para la detección rápida en comparación con el uso de laboratorios fijos se resumen en los siguientes diagramas:



Ilustración 5. Ruta diagnóstica por métodos de laboratorios convencionales

Elaborado Por o Fuente: Ying Wan a. et al. An ultrasensitive electrochemical biosensor for the detection of mecA gene

Ilustración 6. Simplificación del proceso de pruebas clínicas en situaciones ambulatorias utilizando dispositivos de análisis POC frente a métodos de laboratorio



Elaborado Por o Fuente: Ying Wan a. et al. An ultrasensitive electrochemical biosensor for the detection of meca gene

Los biosensores son dispositivos de tamaño reducido, en los que, un elemento de reconocimiento de naturaleza biológica que puede ser un antígeno o un anticuerpo, para un inmunosensor, se acopla con un transductor, el cual convierte el reconocimiento molecular en una señal útil y visible de diagnóstico, entre estos, **los inmunocromatográficos o inmunoensayos de flujo lateral (LFIA)**, constituyen la alternativa más sencilla y accesible para análisis POC (77).

Estos inmunoensayos consisten en segmentos de papel en los que se inmoviliza un biorreactivo, la muestra y otros reactivos se movilizan mediante capilaridad a las zonas preparadas como “zona de control” y “zona de prueba” donde se puede visualizar dos líneas coloreadas o una, dependiendo del resultado positivo o negativo del ensayo (81).

Entre los inmunoensayos de Flujo Lateral (LFIA) existen tres ensayos rápidos para la determinación de proteínas que son los siguientes:

- Ensayos de inmunofiltración.
- Ensayos de aglutinación.
- Inmunoensayos de flujo lateral.

Este tipo de pruebas son ampliamente utilizadas ya que constan de un número reducido de pasos de ensayo y de una detección visual en un período corto de tiempo (138).

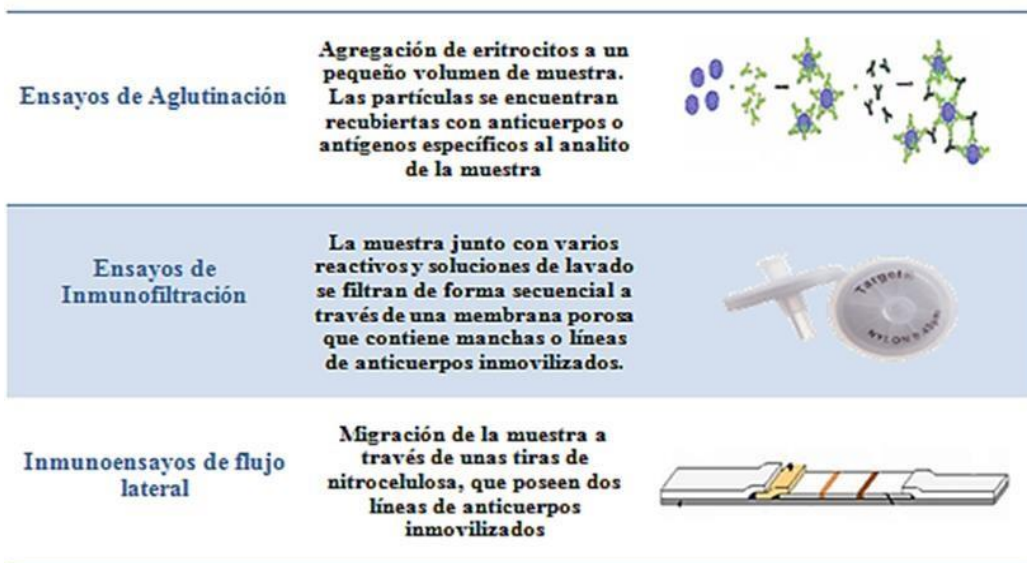


Ilustración 7. Principales ensayos para la determinación de proteínas

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención

El inmunoensayo de flujo lateral es un tipo de test rápido que cumple los requisitos propuestos por la Organización Mundial de la Salud OMS (60).

Los inmunoensayos de flujo lateral son considerados una extensión de los ensayos de inmunofiltración de proteínas y de aglutinación, con las siguientes características:

- Están más adaptados a la comercialización o distribución de test de análisis, y
- A usuarios no especializados en laboratorio.

Desde el punto de vista analítico, también son más sensibles y confiables (77).

En la siguiente figura se indica la estructura de un inmunoensayo de flujo lateral LFIA:

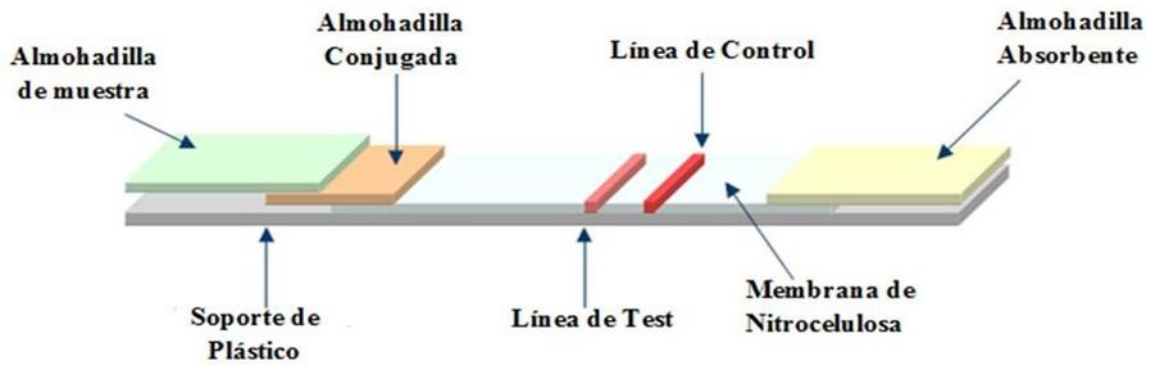


Ilustración 8. Tira de ensayo

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención

Un inmunoensayo de Flujo lateral (LFIA) se basa en la migración de un fluido a través de unas tiras de nitrocelulosa, se considera una prueba de detección visual para uno o varios analitos, estos ensayos se llevan a cabo siguiendo los siguientes pasos: (83).

1. Se realiza la inmovilización de reactivos en una membrana o tira de papel.
2. Se añade la disolución de la muestra en una almohadilla absorbente conocida por el nombre de almohadilla de muestra o *Sample Pad*.
3. El fluido migra por capilaridad a través de esta almohadilla hasta llegar a una zona con otro tipo de papel, conocido como almohadilla conjugada o *Conjugate Pad*, en donde se ha inmovilizado el anticuerpo conjugado que está marcado con partículas coloreadas como oro coloidal o microesferas de látex.
4. La muestra sigue migrando a través de la membrana hasta llegar la zona de captura, donde el complejo analito anticuerpo-conjugado se une a anticuerpos inmovilizados, produciendo una línea que se puede divisar.
5. Pasada esta línea la muestra continúa migrando hasta que llega a la zona de control, donde un exceso de anticuerpo conjugado se une y produce una segunda línea visible, conocida como línea de control que es la que nos indica que la muestra ha migrado a través de la membrana, como

se deseaba y la prueba se realizó de forma correcta.

6. Si al final del ensayo se observan una línea, esto será indicativo de un resultado negativo, y dos líneas un resultado positivo.

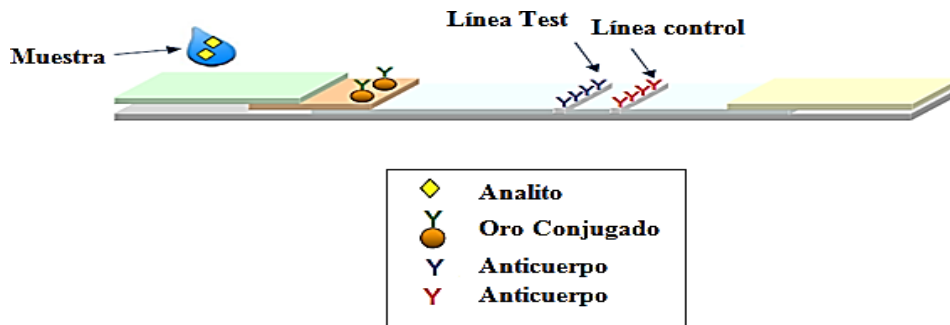


Ilustración 9. Inmunoensayo de flujo lateral

Elaborado Por o Fuente: Attree S. Diagnóstico clínico especializado enfocado en áreas terapéuticas seleccionadas

El LFIA es un ensayo diseñado principalmente para confirmar la ausencia o presencia de un determinado analito en una muestra, sobre la membrana utilizada para la prueba, se colocarán los receptores específicos contra dicho analito, en función del analito utilizado existen varios tipos de pruebas:

- **Ensayo de diseño competitivo;** es cuando el analito es de bajo peso molecular y tiene sólo un epítipo, es decir, es un hapteno, únicamente capaz de unirse a un único anticuerpo específico, a continuación, se describe el ensayo, tanto para un resultado positivo, como para uno negativo (83).



Los anticuerpo conjugados, se encuentran saturados del antígeno presente en la muestra, lo que impide su unión con los anticuerpos de captura inmovilizados sobre la línea de test.

Los anticuerpos conjugados, seguirán migrando a través de la tira, hasta quedarse retenidos sobre los anticuerpos inmovilizados de la línea control.

A diferencia de lo que se solía esperar, en un **ensayo competitivo positivo**, la aparición, de una única línea, la línea de control, nos informa de la presencia del antígeno en la muestra.

Ilustración 10. Ensayos competitivos positivos

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención



En el caso del test negativo, el antígeno no está presente en la muestra, lo que permite que el anticuerpo conjugado pueda ser capturado, por los anticuerpos específicos inmovilizados sobre la línea de test. El exceso de este anticuerpo seguirá migrando hasta la línea control, en donde también se retendrá.

Por lo tanto, en un **ensayo competitivo negativo**, observaremos las dos líneas características de un LFIA, tanto la línea control, como la línea test.

Ilustración 11. Ensayos competitivos negativos

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención

- **Ensayos sándwich;** se prepara la línea de test utilizando un anticuerpo específico del analito inmovilizado sobre la membrana, a continuación, se aplica a esta una disolución que contiene un segundo anticuerpo conjugado denominado antianalito, este tipo de ensayo se aplica cuando los analitos tienen más de un epítomo (83, 146).

El analito en la muestra se unirá inicialmente al segundo anticuerpo y a medida que el flujo avanza por la membrana, uno de sus epítomos

libres se une al anticuerpo inmovilizado en la línea de prueba (83, 147).

En este tipo de ensayos se utilizan anticuerpos secundarios que son los que contienen las marcas que proporcionan la indicación visual, de una reacción de unión entre el analito y anticuerpos primarios y anticuerpos primarios que son los que se inmovilizan sobre un sustrato sólido para capturar al analito (84).



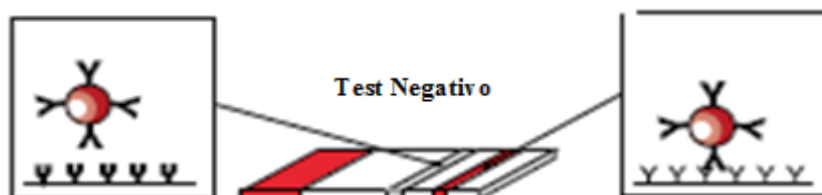
Si el antígeno está presente en la muestra, se unirá, tanto al anticuerpo conjugado como al anticuerpo de captura inmovilizado sobre la línea test de la membrana

El exceso de anticuerpo conjugado, seguirá migrando a través de la membrana hasta quedar retenido sobre la línea control. Ocurriendo esto, tanto si el antígeno está presente o no.

En este tipo de ensayos, la presencia de dos líneas (control y test) nos informan de que el test realizado es positivo.

Ilustración 12. Ensayos sandwich positivos

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención



Si el antígeno no está presente en la muestra, el anticuerpo conjugado únicamente será capaz de unirse a los anticuerpos inmovilizados sobre la línea control.

Cuando esto ocurre, estamos ante un test negativo.

Ilustración 13. Ensayos sandwich negativos

Elaborado Por o Fuente: Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención

PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA

La inmunofluorescencia, en general, es una técnica de inmunomarcacaje que hace uso de anticuerpos unidos covalentemente a sustancias fluorescentes para demostrar la presencia de una determinada molécula en una muestra o para identificar blancos específicos en muestras celulares fijadas sobre un soporte sólido, esta técnica tiene variantes cuantitativas en el caso de la inmunofluorescencia directa y cualitativas como es el caso la inmunofluorescencia indirecta (IFI) que se trata de la inmunotinción de células para su observación por microscopía fluorescente. Es ampliamente utilizada tanto en el campo de la investigación como en el diagnóstico clínico de diversas patologías, en el contexto celular resulta de gran utilidad para estudiar la presencia o ausencia y ubicación subcelular de proteínas. (67, 162).

La inmunofluorescencia es una técnica utilizada para visualizar la distribución de una proteína o antígeno específico en células o secciones de tejido utilizando la especificidad de los anticuerpos por su antígeno para dirigir marcadores fluorescentes a las biomoléculas diana de forma específica haciendo posible la observación de células vivas o muertas que pueden presentar minúsculas cantidades de antígenos. (85).

La inmunofluorescencia, aprovecha la capacidad que tienen los anticuerpos para unirse con alta especificidad a una determinada molécula blanco, como todos los inmunoensayos; en esta técnica la marca unida al anticuerpo es una molécula fluorescente, lo que difiere de otras técnicas inmunohistoquímicas, esta prueba tiene que ver específicamente con la visualización de una muestra por la señal producto de un fluoróforo, que es una molécula fluorescente unida a un anticuerpo y que es capaz de excitarse a determinada longitud de onda. (89).

El anticuerpo marcado se hace reaccionar contra un preparado biológico y luego se expone la muestra así tratada a una fuente de luz de onda corta (azul o ultravioleta) seleccionada por medio de un monocromador; esta luz de onda corta genera un fenómeno de fluorescencia en la molécula marcadora que a su vez emite luz a una longitud de onda más larga (amarillo, naranja o verde); esta luz emitida puede ser observada por medio de un microscopio de fluorescencia en el caso de tratarse de preparados histológicos o cuantificada con facilidad por fotometría, el material

fluorescente revela la localización a nivel celular o subcelular de la molécula diana, es una técnica de gran sensibilidad, y con el equipo adecuado de microscopía, puede tener muy buena resolución, para su observación se requiere del uso de microscopios confocales o de epifluorescencia. (85).

Como técnica de tinción, la inmunofluorescencia, puede ser utilizada en células individuales, líneas celulares cultivadas, cortes de tejidos y secreciones que contengan células en suspensión, esputo, por ejemplo, con la finalidad de analizar la distribución y presencia de glúcidos, proteínas y moléculas pequeñas tanto de origen biológico como no biológico (89).

En el caso de muestras de origen biológico como en muestras no biológicas, la inmunofluorescencia se puede utilizar como técnica inmunoquímica de cuantificación, siempre que se encuentren en un medio favorable para la unión de los anticuerpos; en general se utiliza una solución PBS (Buffer fosfato salino) como medio de reacción (67).

La inmunofluorescencia se basa en la explotación del fenómeno biológico de la reacción de interacción entre un anticuerpo y un antígeno. Tiene que ver concretamente con la visualización o detección de esta reacción al excitar las moléculas fluorescentes a una longitud de onda específica.

Un anticuerpo es una proteína inmunoglobulina secretada a partir de células B activas, y que es generado específicamente contra un antígeno, al cual puede unirse con gran afinidad y especificidad. La inmunofluorescencia hace uso de las inmunoglobulinas IgG, que se encuentran de forma soluble en el suero sanguíneo.

Los anticuerpos son moléculas compuestas por dos cadenas peptídicas cortas y dos largas en forma de “Y”. Tanto las cadenas ligeras como las pesadas se dividen en dos dominios: uno variable, capaz de reconocer el antígeno, y otro constante o conservado, característico de cada especie.

Los antígenos se definen funcionalmente como las moléculas que pueden ser reconocidas por un anticuerpo y son, en su mayoría, proteínas. Cuando un animal es expuesto a un antígeno, los linfocitos del sistema inmune se activan, produciendo anticuerpos específicos contra este y que funcionan como sistema de defensa.

Un antígeno, como una proteína, por ejemplo, puede tener más de un epítipo o lugar de reconocimiento por un anticuerpo, por lo que el suero del animal expuesto a un antígeno puede tener anticuerpos policlonales contra diferentes regiones de la misma proteína.

La inmunofluorescencia, entonces, explota la capacidad de un animal para producir anticuerpos policlonales contra un antígeno específico en aras de purificarlo y emplearlo posteriormente para la detección del mismo antígeno en otros contextos.

Entre los tintes o moléculas fluorescentes más empleados para algunas técnicas de inmunofluorescencia están el isotiocianato de fluoresceína (FITC), el isotiocianato de tetrametilrodamina-5 y 6 (TRITC) y varias cianinas.

El protocolo de inmunofluorescencia varía en dependencia de muchos factores, sin embargo y en líneas generales, engloba una secuencia lineal de pasos que consisten en:

- Preparación de las láminas y de las células
- Fijación de las muestras

Se refiere a preservar la localización, composición y estructura del material biológico a analizar manteniendo lo más fielmente posible a la situación que existe in vivo.

- Permeabilización

El objetivo de este proceso es producir poros en las membranas celulares lo que permite el ingreso de los anticuerpos a la célula si queremos detectar estructuras internas de la célula.

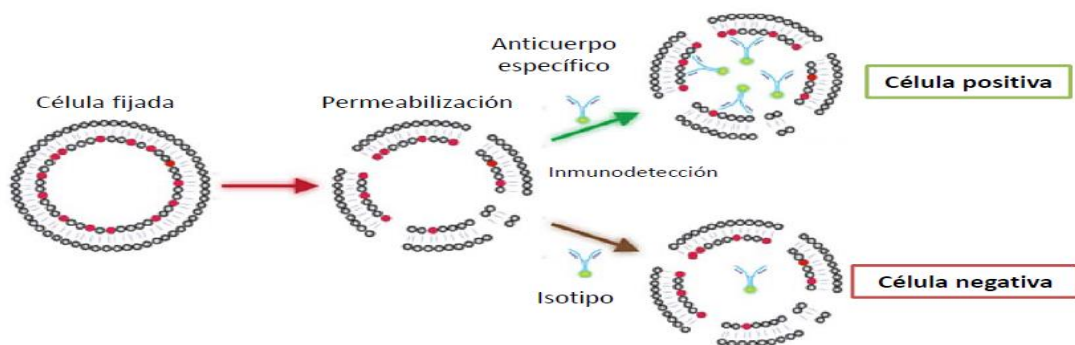


Ilustración 14. Proceso de permeabilización en la prueba de inmunofluorescencia
Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

- Bloqueo

Su función es impedir interacciones inespecíficas de los anticuerpos con el material biológico a analizar y así reducir la marcación inespecífica.

- Inmunotinción o inmunomarcaje, montaje y observación.

Los anticuerpos son proteínas que tienen la capacidad reconocer específicamente y unirse con alta afinidad a otras moléculas, la molécula que es reconocida por los anticuerpos se denomina antígeno, cada antígeno tiene al menos un epítopo o región reconocida por un anticuerpo.

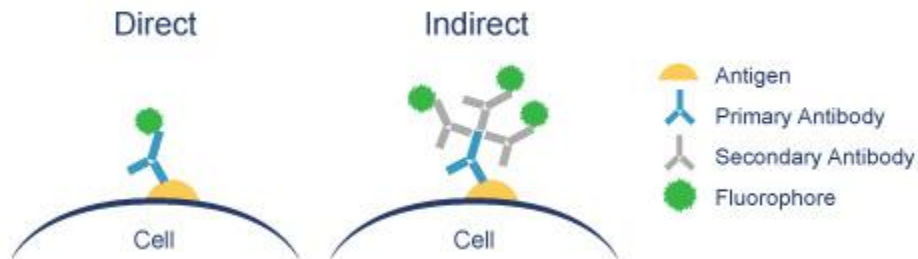


Ilustración 15. Diferencia entre inmunofluorescencia directa e indirecta

Elaborado Por o Fuente: Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea

Tipos de inmunofluorescencia:

Inmunofluorescencia Primaria o Directa (IFD)

En la inmunofluorescencia primaria o directa IFD el anticuerpo reconoce la molécula diana y se une a ella directamente, esta técnica hace uso de un único anticuerpo que se encuentra químicamente unido a un fluorocromo; la región donde se deposita la molécula diana puede ser identificada al microscopio de fluorescencia como una zona brillante en el caso de utilizarse como técnica de tinción inmunohistoquímica (85).

Esta técnica se utiliza para la detección de estructuras subcelulares mediante la utilización de anticuerpos acoplados a fluoróforos, en otras palabras, tiene que ver con la detección de antígenos mediante el uso de anticuerpos fluorescentes. (162).

INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA



Ilustración 16. Esquema inmunofluorescencia directa

Elaborado Por o Fuente: <http://goo.gl/jgO6TO>

Inmunofluorescencia Secundaria o Indirecta (IFI)

La inmunofluorescencia secundaria o indirecta IFI a diferencia de la anterior hace uso de dos anticuerpos; el anticuerpo primario es el que reconoce y se une a la molécula diana, mientras que el secundario que es el que se encuentra marcado con el fluoróforo, reconoce al primario y se une a él; el marcaje indirecto en el que un anticuerpo secundario marcado con un fluorocromo se utiliza para reconocer un anticuerpo primario (89).

Esta técnica requiere más pasos y es un poco más compleja que la IFD, es mucho más flexible que una técnica directa, además de que tiene un efecto de amplificación que también aumenta la sensibilidad de la técnica esto debido a que es posible que un anticuerpo primario se una a más de un anticuerpo secundario, se conoce también como la técnica de “sándwich” (86).

A pesar de ser una técnica que consume mucho más tiempo que la inmunofluorescencia directa (pues incluye un paso más de incubación), esta técnica no implica el diseño de un anticuerpo fluorescente por cada antígeno que se estudia, lo que resulta, en términos económicos, más viable.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es una de las técnicas más utilizadas en los estudios de autoinmunidad debido a su fácil manejo y estandarización, la técnica se basa en el reconocimiento de los anticuerpos que reconocen estructuras antigénicas celulares nativas, además, es una técnica más sensible en términos de amplificación de señal, puesto que más de un anticuerpo secundario puede unirse a la región constante del anticuerpo primario, amplificando así la intensidad de la señal fluorescente. (87)

Es posible realizar esta técnica debido a que los anticuerpos constan de dos partes, una región constante que es la reconocida por el anticuerpo secundario y una región variable que es la que reconoce al antígeno; es posible que existan varios anticuerpos que reconozcan diferentes antígenos, es decir, que tengan diferentes regiones variables, pero que compartan la misma región constante; todos estos anticuerpos con diferentes especificidades pueden ser reconocidos a su vez por un único anticuerpo secundario que reconozca la región constante (85).

El desarrollo de esta técnica implica dos pasos; el primero tiene que ver con el empleo de un anticuerpo no fluorescente y su unión al antígeno de interés contra la región constante de este primer anticuerpo (que ahora servirá de antígeno) se utiliza un segundo anticuerpo capaz de reconocerlo, que sí está asociado a una molécula fluorescente (162); el proceso se divide en dos etapas:

1. El anticuerpo primario no marcado, se une con el antígeno diana.
2. El anticuerpo secundario, lleva el fluoróforo, identifica al anticuerpo primario y se une a él.

Al igual que la mayoría de las técnicas de fluorescencia siempre existen limitaciones, un problema muy significativo con la inmunofluorescencia es la pérdida de la actividad fluorescente causada por la exposición a la luz conocido como fotoblanqueo, sin embargo, puede ser fácilmente controlada incrementando

la concentración de fluoróforo, reduciendo la intensidad o el tiempo de exposición a la luz o empleando fluoróforos que sean menos proclives al fotoblanqueo (89).

En células fijadas o muertas las técnicas de tinción por inmunofluorescencia para la marcación de estructuras subcelulares se encuentran limitada a su uso ya que los anticuerpos no son capaces de atravesar las membranas íntegras de las células vivas; sin embargo, si es posible detectar proteínas o moléculas en suspensión en el sobrenadante o en la periferia de una célula viva, esto posibilita marcar células vivas siempre que no se requiera ver su estructura interna (88).

Los fluorocromos son sustancias que emiten un fotón cuando son excitados por un fotón incidente, forman uniones con las proteínas pero sin afectar los grupos de combinación específica del anticuerpo, la reacción de unión ocurre entre los grupos carboxilo y amino de la proteína y el cloruro de sulfonilo o el grupo tiocianato de los colorantes; el pH afecta la fluorescencia y por esta razón se debe trabajar a pH estable y adecuado dependiendo del colorante (86).

Cuando se observa al microscopio de fluorescencia las muestras positivas exhiben una fluorescencia verde manzana en los sitios donde los anticuerpos se han ligado. Los resultados se expresan en forma cualitativa o semicuantitativa utilizando diluciones seriadas, este procedimiento es muy utilizado para la investigación de anticuerpos tanto en enfermedades infecciosas como en trastornos autoinmunes. (89)

Existen varios diseños de microscopios que pueden ser utilizados para el análisis de preparados histológicos marcados por inmunofluorescencia como el microscopio de epifluorescencia, aunque también es ampliamente utilizado el microscopio confocal. (87).

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

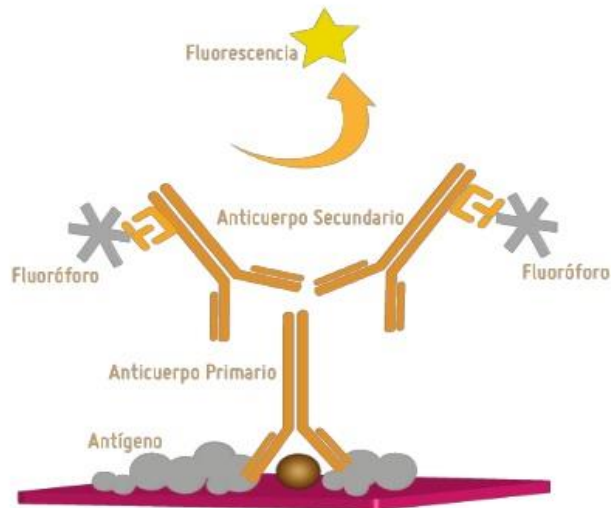


Ilustración 17. Esquema injkunofluorescencia indirecta

Elaborado Por o Fuente: <http://goo.gl/jgO6TO>

Tratamiento

Aún no se ha encontrado una antibioticoterapia totalmente efectiva para la erradicación de la bacteria, el tratamiento en general es caro, difícilmente exitoso y se realiza casi exclusivamente solo en aquellos animales que puedan ser monitoreados durante y después del tratamiento bajo condiciones controladas, esto debido a que generalmente se produce reinfección luego del procedimiento farmacológico (83).

Estreptomina, doxiciclina y rifampicina son las principales drogas para el tratamiento de la brucelosis canina, debido a las recidivas después de la finalización del tratamiento se han utilizado combinaciones antibióticas con los fármacos mencionados durante 6 semanas con efectos temporales (47).

Por su alta proporción de recaídas el tratamiento antimicrobiano ha presentado resultados inconclusos, esto se atribuye a que *Brucella canis* es un organismo facultativo intracelular y a la capacidad del microorganismo para permanecer en los nódulos linfáticos y en el tejido prostático en donde los agentes antimicrobianos no

alcanzan un nivel adecuado para tener alcance terapéutico, la reaparición de la enfermedad después de la suspensión del tratamiento es común en la mayoría de los casos (82).

In vitro, las quinolonas tuvieron una respuesta aceptable, existe también una sinergia moderada para tetraciclinas y aminoglucósidos, las tetraciclinas se mostraron como los antibióticos con menores concentraciones inhibitorias mínimas en tanto que se observó resistencia a los macrólidos, mientras que la combinación más sinérgica fue la de estreptomicina y enrofloxacin (90).

La eficacia de la enrofloxacin administrada en forma oral cada 12 horas durante 30 días a razón de 5 mg/Kg indicó que las perras se mantuvieron negativas a la prueba de RSAT durante 14 meses (91).

En general, las terapias médicas son imprácticas para el tratamiento de la brucelosis canina debido a la naturaleza del microorganismo, tratamiento prolongado, efectividad parcial y el elevado costo de la terapia, por lo que los métodos de prevención y control son de suma importancia; la eutanasia de animales infectados, la esterilización, el monitoreo y la cuarentena en animales que ingresan a un criadero u otro sitio donde se aglomeran caninos han demostrado ser medidas eficaces para el control de *Brucella canis* (92).

En el caso de las vacunas contra la brucelosis canina se ha demostrado que solo confieren una protección moderada, además de que no están disponibles en la mayoría de los países, siendo la desventaja principal de estas vacunas que los anticuerpos producidos pueden dificultar la interpretación del diagnóstico serológico de la enfermedad (6).

Control

Se debe tener como norma el control serológico rutinario y la eliminación de animales positivos, además de la cuarentena y control serológico previo a la introducción de animales nuevos en las instalaciones, que serían dos pruebas negativas con intervalos de cuatro a seis semanas, en el caso de las hembras deben monitorearse antes de cada celo; para el control de la enfermedad no ha habido resultados exitosos referidos al desarrollo de vacunas efectivas para proteger contra

la patología y que no interfieran en el diagnóstico; se puede utilizar la castración como medida adicional de control mas no definitiva (93).

El tratamiento antimicrobiano ha presentado resultados inconclusos por su alta proporción de recaídas, esto se atribuye a la localización intracelular del microorganismo y a la capacidad del patógeno para permanecer en los nódulos linfáticos y el tejido prostático en donde los niveles de los agentes antimicrobianos no tienen alcance terapéutico; el control de la infección por *Brucella canis* en perros se realiza mediante la detección oportuna de los animales infectados seguida por la eliminación del grupo. (82).

Brucella canis se elimina fácilmente mediante los desinfectantes más comunes, entre ellos los yodóforos, los desinfectantes fenólicos, sosa cáustica, cal apagada, las soluciones de hipoclorito, el formaldehído, el glutaraldehído, el etanol, el isopropanol, entre otros; sin embargo, las bajas temperaturas y la materia orgánica disminuyen la eficacia de los desinfectantes, no se aconseja la utilización de compuestos del amonio cuaternario (139).

Se puede utilizar la esterilización en autoclave para eliminar las bacterias del equipo contaminado ya que estos microorganismos se inactivan por el calor seco, hervir los líquidos durante 10 minutos suele ser eficaz; las especies de este género también se inactivan mediante radiación gamma (140).

Transmisión a personas

La Organización Mundial de la Salud OMS establece que el 60-65% de las enfermedades que afectan al humano son de carácter zoonótico como es el caso de la brucelosis canina, esta es una enfermedad de declaración obligatoria en algunos países por lo que se debe consultar a las entidades de control estatales para obtener lineamientos específicos de prevención y control (141).

la población infantil está más expuesta a infectarse debido a la exposición mediante la convivencia y el juego, también por los animales callejeros infectados (1).

Las infecciones declaradas zoonóticas por la Organización Internacional de Epizootias (OIE) ameritan medidas específicas de diagnóstico, prevención y

control, para lo cual se evalúan diferentes aspectos que orientan la identificación de riesgo de infección que por lo general está condicionado a la exposición (2).

Los factores de riesgo son circunstancias, condiciones o características que condicionan o permiten que exista una mayor probabilidad de que ocurra una eventualidad de transmisión, los factores de riesgo para la propagación y zoonosis de *Brucella canis* están relacionados con factores ocupacionales y prácticas culturales (94, 95).

Con más de 500.000 casos nuevos anuales e implicando una alta morbilidad en la población expuesta esta enfermedad es considerada la zoonosis bacteriana más prevalente a nivel mundial (96).

La convivencia de personas con perros infectados, y la manipulación de fluidos reproductivos, implica un riesgo zoonótico alto, las personas con el mayor riesgo de contagio son personal de laboratorio o asistentes de criaderos, en quienes era posible la exposición masiva, repetitiva o ambas, aunque personas que sólo tuvieron contacto con mascotas infectadas también han contraído el microorganismo (97).

La seroprevalencia puede alcanzar hasta el 68% en humanos en permanente contacto con perros, no obstante, las infecciones por *Brucella canis* puede ser difíciles de diagnosticar y es posible que los casos no sean declarados en su totalidad; las tasas de seroprevalencia informadas en humanos incluyen 13 % en un grupo de pacientes de hospitales en México, 0.3 % en Alemania, 0.4 % en poblaciones militares de EEUU, 0.6 % en residentes de Florida, y 67.8 % en residentes de Oklahoma (98, 99)

A nivel mundial, se han reportado varios casos de humanos positivos con aislamiento de *Brucella canis* los cuales han sido principalmente personas convivientes con caninos infectados como veterinarios y otros profesionales del área de la salud animal y personas que tienen contacto con material biológico como criadores y poseedores de mascotas, adicionalmente grupos vulnerables lo constituyen personas inmunocomprometidas, niños y enfermos de VIH (100,101).

En Latinoamérica, se han reportado varios casos humanos provocados por *Brucella canis*, esta incidencia coincide con los porcentajes elevados de animales seropositivos a la enfermedad en distintas ciudades (48, 102, 103, 104, 105).

La transmisión de este microorganismo a personas se da principalmente por contacto directo con productos de abortos, fluidos y descargas vaginales, así como también por la orina de machos y hembras infectados, en sitios donde se aglomeran perros estos factores de exposición ocurren fácilmente (98).

Se presentan varios síntomas en personas asociados a brucelosis canina; dada la capacidad de infectar los osteoblastos humanos e inducir respuesta de citoquinas en estas células se presentan problemas osteoarticulares como discoespondilitis, osteítis, artralgias; además de otros síntomas como fiebre recurrente, fatiga, dolor de cabeza, linfadenopatía y malestar general (84, 106).

Por la sintomatología de carácter doloroso que presenta de forma recurrente la brucelosis se considera una enfermedad incapacitante y aunque menos frecuentes en las presentaciones nerviosa o cardiovascular, se considera un padecimiento mortal (80, 96).

Las infecciones por *Brucella canis* en los humanos se asemejan a la brucelosis causada por otras especies de este género, algunas personas infectadas permanecen asintomáticas, cuando si se presentan síntomas, la enfermedad es extremadamente variable y los signos clínicos pueden aparecer de forma insidiosa o súbita (142).

Por lo general, la enfermedad comienza con fiebre aguda con síntomas inespecíficos similares a los de la gripe como, malestar, mialgia, sudoración excesiva especialmente nocturna y dolores generalizados como de cabeza de espalda y articulares (91).

Mientras que algunos pacientes desarrollan síntomas persistentes que generalmente aumentan y se debilitan, otros se recuperan espontáneamente, las complicaciones observadas con menor frecuencia incluyen: artritis, espondilitis, fatiga crónica, orquitis y epididimitis (143).

También pueden producirse síntomas neurológicos entre ellos meningitis, uveítis, neuritis óptica, cambios de personalidad; además de otros como nefritis, endocarditis, vegetaciones e insuficiencia aórtica, anemia, abscesos internos y dermatitis, como varios órganos y tejidos pueden resultar comprometidos se provocan una gran variedad de síndromes, entre ellos hepatitis, esplenomegalia, adenopatía submandibular, entre otros (107).

El índice de mortalidad es bajo, en las personas que no reciben tratamiento los cálculos de casos que provocan muerte oscilan entre menos de 2 % y 5 %; el tratamiento consiste en antibioticoterapia; no obstante, se pueden observar recaídas durante meses después de los síntomas iniciales, la mortalidad suele ser causada por la endocarditis o la meningitis (84).

CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.

Investigación descriptiva

Lugar del estudio (Área de la investigación)

Este estudio está enfocado en determinar la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en la población canina que es atendida en el Centro de Esterilización del Gobierno Autónomo Descentralizado Intercultural del cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, está ubicado en el barrio Patoa de Quevedos, desde el mes de octubre del 2019 hasta diciembre del 2020. Anexo 1 y 2.

Población y muestra

La población y muestra se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Población y muestra de caminos sometidos a las pruebas de *Brucella canis*

Número total de caninos que accedieron al servicio de esterilización quirúrgica	877
Número de animales que fueron sometidos a prueba de inmunocromatografía	216
Número de animales que fueron sometidos a prueba de inmunofluorescencia (IFI)	100

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Para la prueba a base del test de inmunocromatografía de flujo lateral de uso comercial Bionote se utilizaron muestras de 216 animales.

Para la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) se recolectaron muestras de 100 animales.

La edad de estos especímenes a tomarse en cuenta fue desde el primer año, todos fueron ingresados al Centro de Esterilización Canina Y Felina del Gobierno

Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí con el fin de recibir el servicio de esterilización quirúrgica desde octubre del 2019 hasta la fecha.

Recopilación de datos

Todos los animales fueron registrados en la base de datos del Centro de Esterilización Canina Y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí mediante la ficha clínica establecida, se recopiló la información pertinente de los animales en estudio por medio de anamnesis, la búsqueda de información estuvo dirigida especialmente a detectar problemas de tipo reproductivo en los animales y si existió la posibilidad de que esos animales estuvieron expuestos al microorganismo en algún momento de sus vidas. Anexo 3.

La muestra fue tomada totalmente al azar debido a que se realizaron las pruebas a todo canino que sea ingresado en el Centro de esterilización canina y felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, la única condición a tomarse en cuenta es que se encuentren en edad reproductiva (animales mayores a un año); el propietario o responsable de la mascota debe autorizar los procedimientos a realizarse en los animales mediante un documento escrito. Anexo 4.

Procesamiento de muestras

Este estudio se llevará a cabo entre los meses de octubre del 2019 y diciembre del 2020 con los animales pertenecientes al cantón Pujilí y que sean ingresados al Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Intercultural del Cantón Pujilí.

Manejo del paciente

- Toma de datos. Anamnesis.
- Examen clínico del animal.
- Recopilación del historial reproductivo con el fin de catalogarlo como animal sospechoso; se considerará sospechoso cuando hubo reporte de abortos, nacimiento de cachorros débiles, copulación normal sin preñez posterior, camadas pequeñas, ciclos demasiado frecuentes, entre otros

síntomas de carácter reproductivo o que sean animales que deambulen libremente.

Toma de muestras:

- Rasurado del sitio de extracción; según el caso puede considerarse el área de la vena safena o el área de la vena yugular. Anexo 5.
- Desinfección del área de extracción; se utiliza desinfectante tópico, alcohol, clorhexidina, otros.
- Con una jeringa de 5 ml se extrae la muestra de sangre entera de la vena safena, cefálica u otra, según en caso. Anexo 6.
- Para la prueba del test de inmunocromatografía de flujo lateral se utilizó sangre entera con anticoagulante EDTA. Anexo 7.
- Para la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) se utilizó suero sanguíneo; este fue congelado y enviado al laboratorio para su análisis. Anexo 8.

Identificación de las muestras.

- Para la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral se colocó en número de historia clínica en el cassette del test. Anexo 9.
- Para la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) se colocó el número de historia clínica en el tubo Eppendorf. Anexo 10.

Prueba de inmunocromatografía de flujo lateral (LFIA)

Las muestras se tomaron previo al proceso de esterilización quirúrgica de los animales.

Una vez extraída la muestra de sangre entera se procedió inmediatamente al realizar el test según las instrucciones del fabricante.

Se realizó el test de inmunocromatografía (Bionote, Inc. Anigen Rapid C. *Brucella* AbTest Kit®, Gyeonggi-do, Corea) para la detección cualitativa del anticuerpo *Brucella canis* en sangre, plasma o suero; en este caso se aplica directamente en sangre, este test tiene las siguientes características: (145).

Tabla 3. Características de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

Tiras	Prueba de tira única
Principio	Ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral sándwich
Uso previsto	Detección de anticuerpos caninas de Brucella en sangre total, plasma o suero
Muestra	Sangre total, plasma o suero
Sensibilidad	93%
Especificidad	100%
Límite de detección	No
Reacción	No
Tiempo de lectura de resultados	20 minutos
Almacenamiento	Almacenarse a temperatura ambiente o refrigerarse, no someter a congelación, es estable hasta la fecha de vencimiento marcada en la etiqueta del paquete, no exponer a la luz solar directa

Elaborado por o fuente: BIOTECHGR. Canino brucella AB.

El proceso fue el siguiente:

- Preparamos los materiales que vienen en el test: tubo con anticoagulante EDTA, tubo capilar, buffer del diluyente y placa.
- Retiramos el kit de prueba de la bolsa de aluminio y lo colocamos sobre una superficie plana y seca.
- Se toman 10 μl de sangre hasta llegar a la línea oscura marcada del tubo capilar.
- Añadimos lentamente 10 μl de muestra al pozo de muestra utilizando un tubo capilar con una línea de ranura para un volumen de 10 μl y luego agregue 2 gotas (aproximadamente 60 μl) de diluyente de ensayo.
- Como resultado de la prueba, puede ver la banda violeta en la ventana de resultados del kit, si la migración no aparece después de 1 minuto se agrega una gota más de diluyente de ensayo al pozo de la muestra.

- El test se interpretará a los 20 minutos, siendo positivo el que mostrará dos líneas en la ventana de resultados, no lea después de 20 minutos, el tiempo de interpretación anterior se basa en la lectura de los resultados de la prueba a una temperatura ambiente de 15 - 30 ° C. Si la temperatura de su habitación es significativamente inferior a 15 ° C, el tiempo de interpretación debe aumentarse adecuadamente
- El test kit Anigen rápido C. *Brucella* Ab tiene una carta de T y C como línea de prueba y línea de control en la ventana de resultados q no son visibles antes de aplicar las muestras.
- La línea de control C se utiliza para monitorear el procedimiento, esta línea debe aparecer si el procedimiento se realizó correctamente y los reactivos de la prueba funcionan.
- La línea de prueba T será visible en la ventana si se identifican anticuerpos de *Brucella canis* en la muestra, lo que permite que este kit tenga un alto grado de precisión.

La interpretación de la prueba es la siguiente:

- Resultado negativo; la presencia de solamente una banda dentro de la ventana de resultados indica negativo.

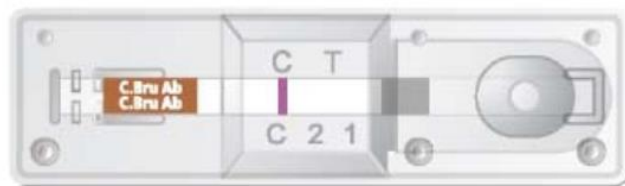


Ilustración 18. Resultado negativo - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

Elaborado Por o Fuente: BIOTECHGR. Canino brucella AB.

- Resultado positivo; la presencia de dos bandas dentro de la ventana de resultados sin importar cual banda aparezca primero indica un resultado positivo.

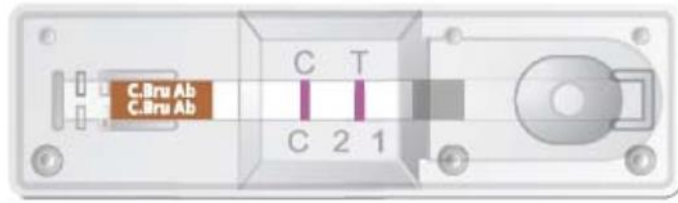


Ilustración 19. Resultado positivo - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

Elaborado Por o Fuente: BIOTECHGR. Canino brucella AB.

- Resultado inválido; si no hay banda de color dentro de la ventana de resultados (C) después de realizar la prueba el resultado se considera inválido.

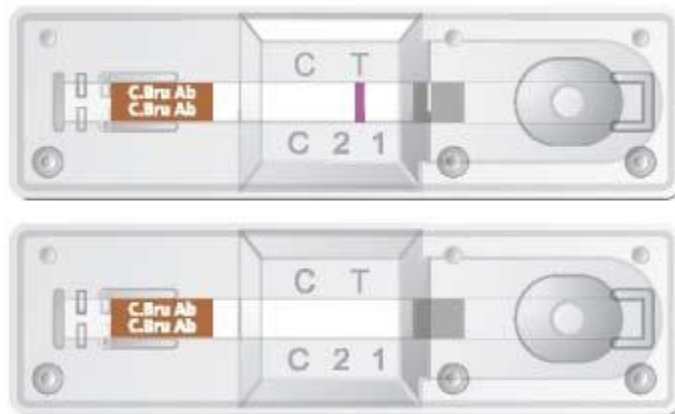


Ilustración 20. Resultado inválido - prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

Elaborado Por o Fuente: BIOTECHGR. Canino brucella AB.

Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Todas las muestras fueron recolectadas y procesadas previamente a realizar la cirugía de esterilización.

Se extrajo el suero sanguíneo y se congeló, empacó al frío y se envió al laboratorio “LIVEXLAB CIA LTDA” de la ciudad de Quito.

Es una técnica de doble capa en donde se aplica el anticuerpo sin marcar directamente sobre el sustrato de tejido y se visualiza por tratamiento con un suero anti-inmunoglobulina conjugado con fluorocromo (164).

El proceso consta de dos etapas:

En la primera etapa se fijan sobre un portaobjetos los antígenos que constituyen el sustrato conocido específico sobre él se coloca el suero de quien se sospecha la presencia de anticuerpos específicos, si la reacción es positiva se dará formación de complejo antígeno-anticuerpo no visible ya que el anticuerpo no estaba marcado; en la segunda etapa se agrega una anti-inmunoglobulina marcada, que reaccionará con el anticuerpo del complejo producido en la primera etapa (165).

Preparación de las muestras:

- Extracción suero canino:
- Rasurado y desinfección de la vena safena.
- Extraemos 5 ml de sangre entera con una jeringa.
- Colocamos en un tubo de ensayo de tapa roja sin anticoagulante.
- Dejamos reposar a temperatura ambiente protegido de la luz aproximadamente 3-4 horas.
- Una vez separado el suero del coagulo se extrae del tubo con otra jeringa.
- Colocamos el suero en un tubo Eppendorf.
- Congelamos para la conservación de la muestra y el traslado al laboratorio (166).

Procedimiento de tinción de la muestra y observación microscópica:

- Calentar el portaobjetos a temperatura ambiente antes de sacarlo de la bolsa de aluminio.
- Colocar el suero diluido en los pocillos designados.
- Diluir el suero en tampón de dilución de suero, pH 7.2.
- Incubar el portaobjetos en una cámara húmeda a 37 ° C durante 30 minutos.
- Enjuagar suavemente el portaobjetos brevemente en tampón de enjuague, pH 9.0.

- Dejar reposar durante 10 minutos en tampón de enjuague, pH 9.0.
- Drenar el portaobjetos y seque alrededor de los pocillos presionando el secante contra la superficie frontal.
- Colocar la etiqueta anti IgG o IgM en los pocillos.
- Incubar el portaobjetos en una cámara húmeda a 37 ° C durante 30 minutos.
- Enjuagar suavemente el portaobjetos brevemente en tampón de enjuague, pH 9.0.
- Drenar el portaobjetos y seque la espalda y los bordes con una toalla de papel, no permitir que la superficie manchada se seque y no enjuagar con agua.
- Montar con líquido de montaje.
- Observar con el microscopio de fluorescencia a 100X-250X, la confirmación se puede hacer a 400X. Patrón de fluorescencia: células de tinción brillante sobre un fondo uniforme de glóbulos rojos ovinos (168).

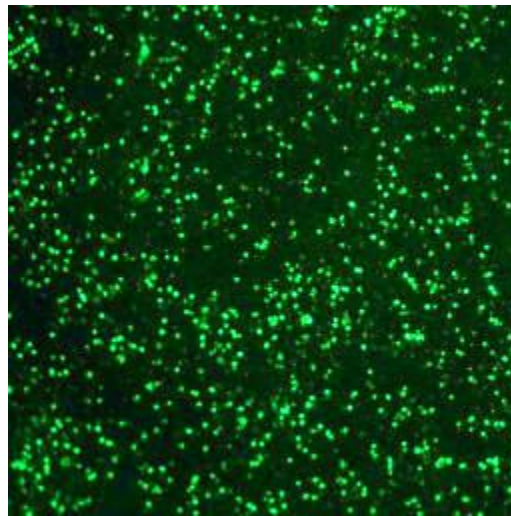


Ilustración 21. Patrón de fluorescencia - Prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI

Elaborado Por o Fuente: Parada Puig, Raquel. Inmunofluorescencia: fundamento, protocolo y aplicaciones.

Interpretación de resultados:

Los títulos de 1/100 se consideran sospechosos y 1/200 positivos para brucelosis canina.

Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos donde se consignará información de las variables de los caninos evaluados y los resultados obtenidos tanto en el test de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA de uso comercial utilizadas in situ, como en las pruebas de inmunofluorescencia indirecta IFI obtenidas a través del laboratorio.

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, es post facto o no experimental, en la que se prueba la asociación de variables mediante métodos estadísticos de tipo cuantitativo.

Se realizó un análisis exploratorio de la realidad actual del Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí en que se identifican situaciones demográficas, también se realizó un análisis de asociación mediante el método chi cuadrado para probar la relación entre las variables demográficas y la prevalencia de la enfermedad.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

Descripción de la población de estudio:

Se tomaron muestras sanguíneas en machos y hembras, 216 fueron procesadas in situ bajo la técnica de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA para *Brucella canis* con el test de uso comercial, Bionote, Inc. Anigen Rapid C. Brucella AbTest Kit® que se realizó en muestras de sangre entera y 100 muestras de suero sanguíneo se procesaron bajo la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI en un laboratorio certificado; se tomaron en cuenta las variables sexo, raza, edad e historial reproductivo, se empleó estadística descriptiva.

Para la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA, los resultados obtenidos fueron los siguientes: en la variable “sexo”, de las 178 hembras muestreadas el 10.67% resulto positivo, de los 38 machos muestreados el 13.15% resulto positivo; en la variable “raza”, 165 muestras fueron de animales mestizos de los cuales el 10.30% fue positivo, 51 muestras fueron de animales de otras razas de los cuales el 13.75% fue positivo; en la variable “edad”, 102 muestras fueron de caninos de 1-2 años el 11.76% fue positivo, 93 muestras fueron de caninos de 2-5 años el 10.75% fue positivo, 21 muestras fueron de caninos mayores a 5 años el 9.52% fue positivo; para la variable “historial reproductivo”, 201 animales se consideró normal de estos el 8.45% fueron positivos, 15 animales se les consideró anormal de estos 46.66% fueron positivos.

Para la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI, los resultados obtenidos fueron los siguientes: en la variable “sexo”, de las 81 hembras muestreadas el 14.81% resulto positivo, de los 19 machos muestreados el 10.52% resulto positivo; en la variable “raza”, 71 muestras fueron de animales mestizos de los cuales el

15.49% fue positivo, 29 muestras fueron de animales de otras razas de los cuales el 10.34% fue positivo; en la variable “edad”, 51 muestras fueron de caninos de 1-2 años el 9.80% fue positivo, 40 muestras fueron de caninos de 2-5 años el 17.50% fue positivo, 9 muestras fueron de caninos mayores a 5 años el 22.22% fue positivo; para la variable “historial reproductivo”, 94 animales se consideró normal de estos el 14.89% fueron positivos, 6 animales se les consideró anormal en y estos no hubo casos positivos.

Tabla 4. Población según las diferentes variables que fue sometida la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

VARIABLE	CATEGORÍA	N°	%
Sexo	Machos	38	17.59
	Hembras	178	82.40
	Total	216	100
Raza	Mestiza	165	76.38
	Otras	51	23.61
	Total	216	100
Edad	1-2 años	102	47.22
	2-5 años	93	43.05
	Más de 5 años	21	9.72
	Total	216	100
Historial reproductivo	Normal	201	93.05
	Anormal	15	6.94
	Total	216	100
Prueba LFIA	Negativo	192	88.88
	Positivo	24	11.11
	Total	216	100

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tabla 5. Resultados de la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

VARIABLE	CATEGORÍA	Anticuerpos <i>Brucella canis</i>				
		N°	Negativo	%	Positivo	%
Sexo	Macho	38	33	86.42	5	13.15
	Hembra	178	159	89.32	19	10.67
	Total	216	192	88.88	24	11.11
Raza	Mestiza	165	148	89.69	17	10.30
	Otras	51	44	86.27	7	13.75
	Total	216	192	88.88	24	11.11
Edad	1-2 años	102	90	88.23	12	11.76
	2-5 años	93	83	89.24	10	10.75
	Más de 5 años	21	19	90.47	2	9.52
	Total	216	192	88.88	24	11.11
Historial reproductivo	Normal	201	184	91.54	17	8.45
	Anormal	15	8	53.33	7	46.66
	Total	216	192	88.88	24	11.11

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tabla 6. Población según las diferentes variables que fue sometida la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI

VARIABLE	CATEGORÍA	N°	%
Sexo	Machos	19	19
	Hembras	81	81
	Total	100	100
Raza	Mestiza	71	71
	Otras	29	29
	Total	100	100
Edad	1-2 años	51	51
	2-5 años	41	41
	Más de 5 años	8	8
	Total	100	100
Historial reproductivo	Normal	100	100
	Anormal	0	0
	Total	100	100
Prueba IFI	Negativo	86	86
	Positivo	14	14
	Total	100	100

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Tabla 7. Resultados de la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI

VARIABLE	CATEGORÍA	Anticuerpos <i>Brucella canis</i>				
		Nº	Negativo	%	Positivo	%
Sexo	Macho	19	17	89.47	2	10.52
	Hembra	81	69	85.18	12	14.81
	Total	100	86	86	14	14
Raza	Mestiza	71	60	84.50	11	15.49
	Otras	29	26	89.65	3	10.34
	Total	100	86	86	14	14
Edad	1-2 años	51	46	90.19	5	9.80
	2-5 años	40	33	82.5	7	17.50
	Más de 5 años	9	7	77.77	2	22.22
	Total	100	86	86	14	14
Historial reproductivo	Normal	94	80	85.10	14	14.89
	Anormal	6	6	100	0	0
	Total	100	86	86	14	14

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

ANÁLISIS DE DATOS

Análisis demográfico del objeto de estudio

El 93,4% de los animales muestreados en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, tienen propietario, hay que aclarar que cuando se inició este estudio se estaban atendiendo al último grupo de animales callejeros, sin embargo, estos animales también tenían personas responsables por ellos.

Tabla 8. Categoría

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Propietario	295	93,4	93,4	93,4
Callejero	21	6,6	6,6	100,0
Total	316	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

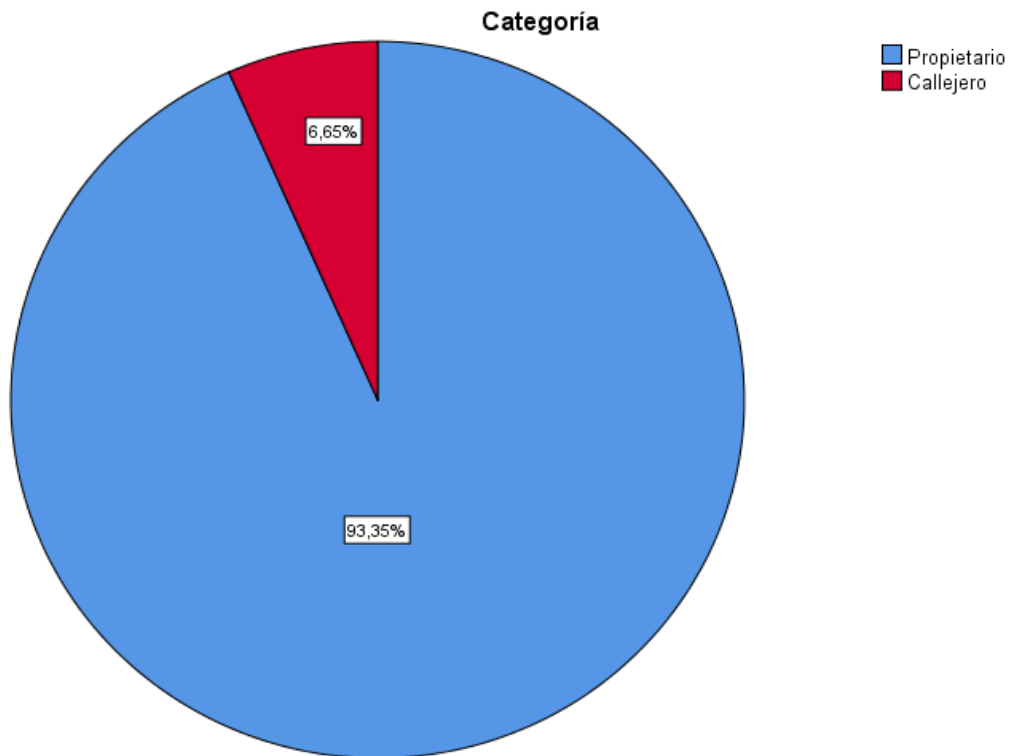


Ilustración 22. Gráfico circular de la categoría de los caminos

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

El 82,6% de la población sometida a las pruebas de brucelosis en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, son hembras, esto debido a que existe mayor disposición por parte de los propietarios de esterilizar animales de este sexo.

Tabla 9. Sexo

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
M	55	17,4	17,4	17,4
H	261	82,6	82,6	100,0
Total	316	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

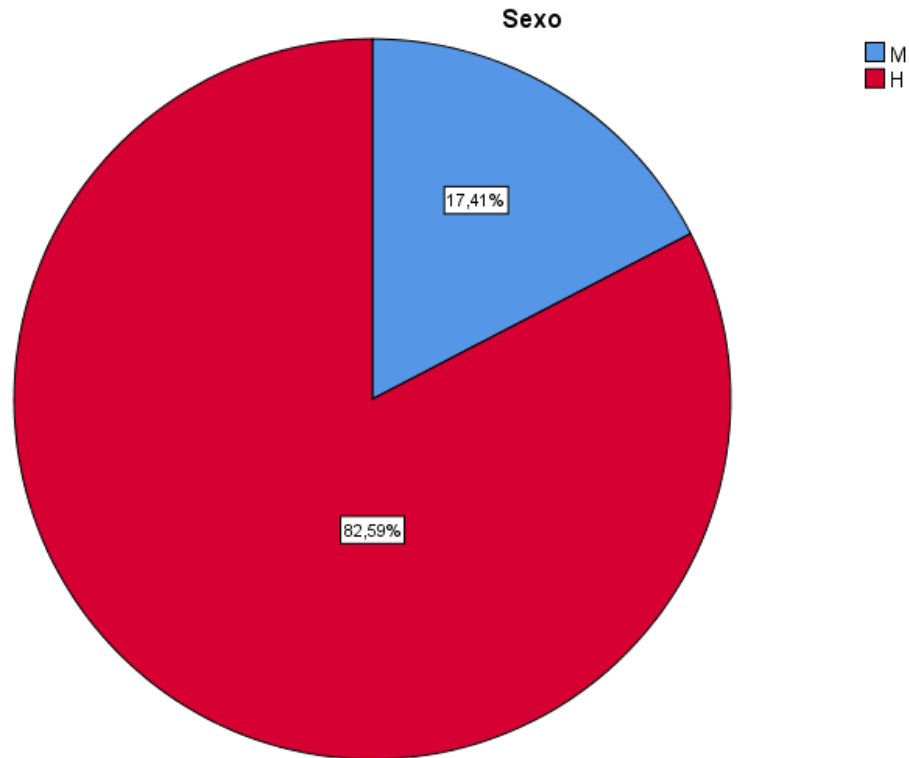


Ilustración 23. Gráfico circular del sexo de los caninos

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

El 88% de los caninos sujetos de prueba en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, han tenido partos o montas confirmadas, este parámetro es tomado en cuenta debido a que la brucelosis canina es considerada una enfermedad de transmisión sexual.

Tabla 10. Partos/montas

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
No	38	12,0	12,0	12,0
Si	278	88,0	88,0	100,0
Total	316	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

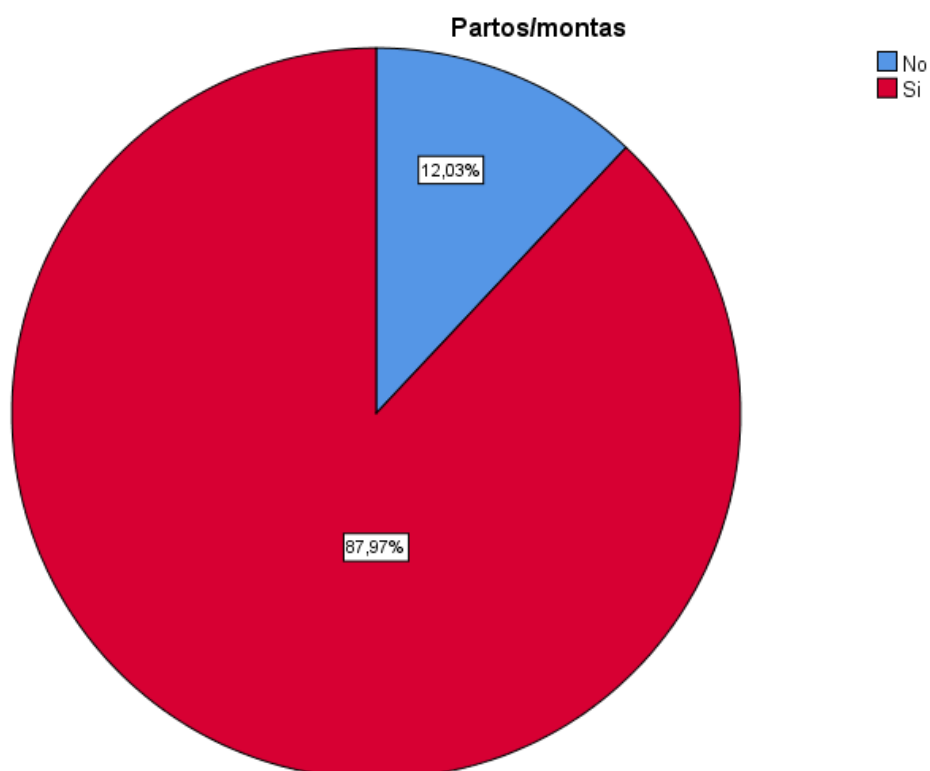


Ilustración 24. Gráfico circular de los partos/montas

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Una marcada mayoría del 74,7% de los canes de estudio del Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, son mestizos, a la vez que, el 8,9% son de raza caniche. El 16,4% pertenece a otras razas, la explicación es que la mayoría de propietarios de mascotas prefieren no esterilizar a perros de raza con fines comerciales.

Tabla 11. Raza

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Mestizo	236	74,7	74,7	74,7
Caniche	28	8,9	8,9	83,9
Otras	52	16,4	16,4	100,0
Total	316	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

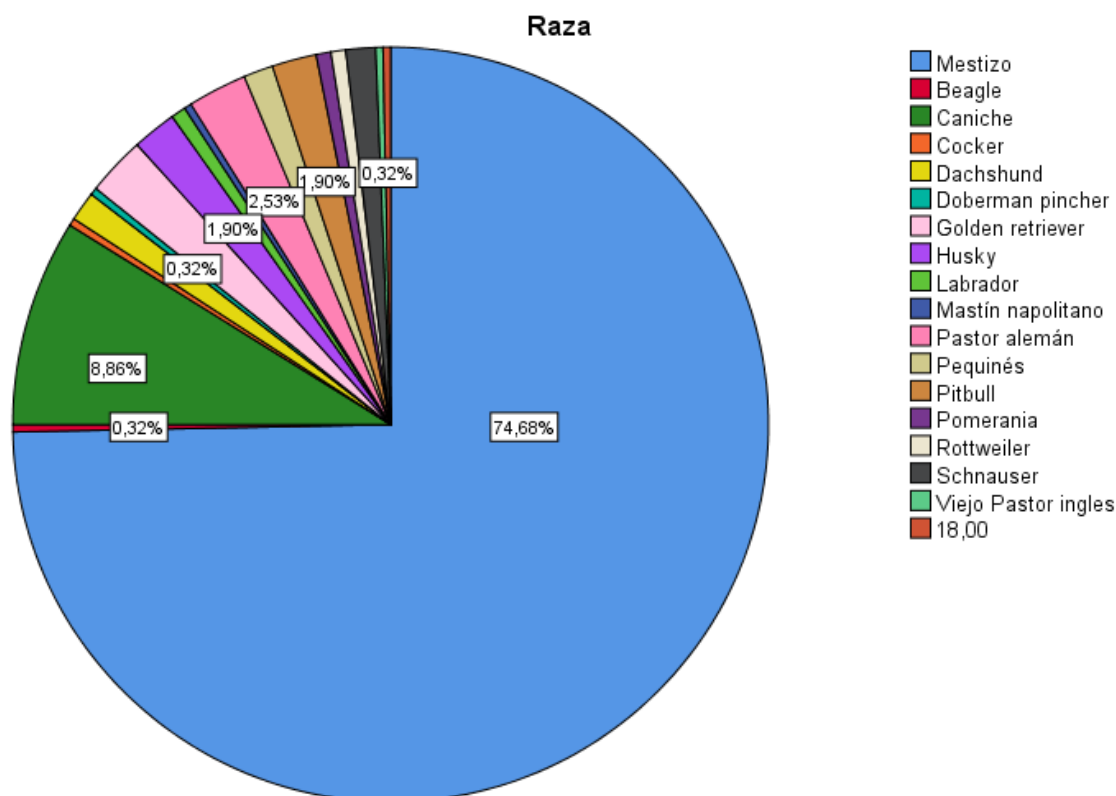


Ilustración 25. Gráfico circular de la raza de los caninos

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

La edad de los canes del Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, tienen una media de 3,1076. La cual, puede variar entre 2,8889 y 3,3263. La edad mínima de los canes es 1 año y la máxima 13, la asimetría indica que la mayoría de elementos de la muestra tienen edades inferiores a la media.

Tabla 12. Edad

		Estadístico
Media		3,1076
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	2,8889
	Límite superior	3,3263
Desviación estándar		1,97592

Mínimo	1,00
Máximo	13,00
Rango	12,00
Asimetría	1,967

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

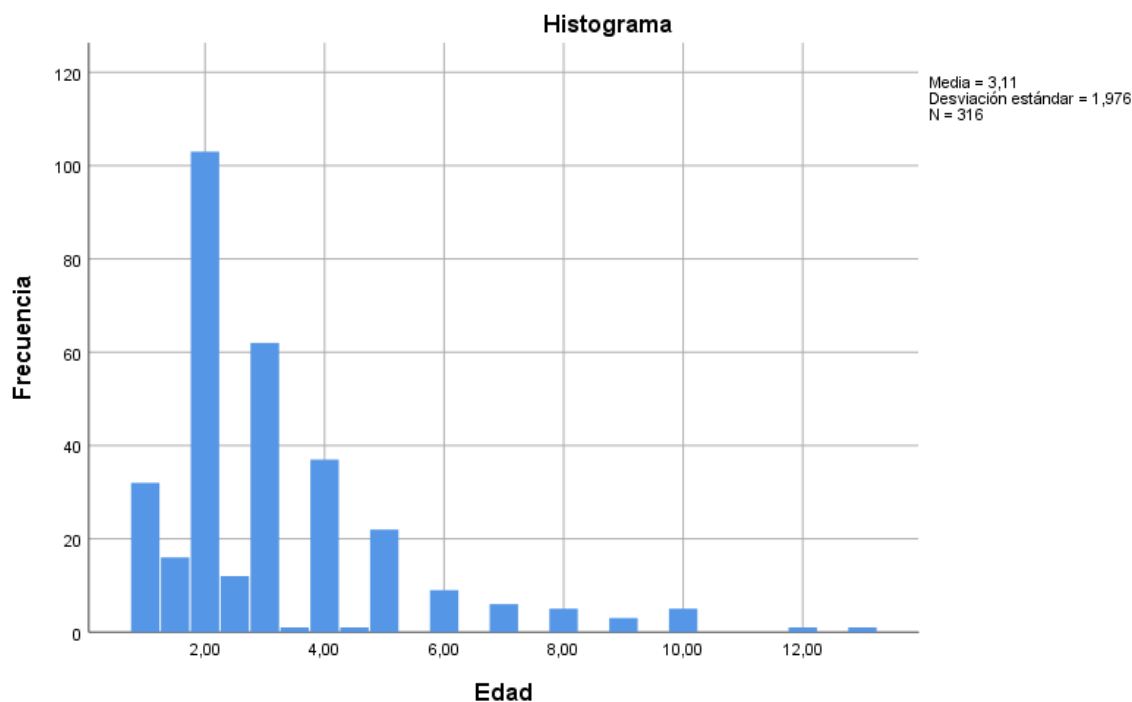


Ilustración 26. Histograma de la edad de los caninos

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Resultados de la prueba de brucelosis

El antígeno de *Brucella canis*, en sangre canina, mediante el test de inmunocromatografía de flujo lateral de uso comercial Bionote, Inc. Anigen Rapid C. Brucella AbTest Kit®, está presente en el 11,1% de los animales en estudio del Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi. Anexo 11.

Tabla 13. Resultados de la prueba de brucelosis mediante el test de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
------------	------------	-------------------	----------------------

Negativo	192	88,9	88,9	88,9
Positivo	24	11,1	11,1	100,0
Total	216	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña



*Ilustración 27. Gráfico circular de los resultados de la prueba de *Brucella canis* mediante el test de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA*

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Se ha identificado mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), que el antígeno de *Brucella canis*, se encuentra presente en el 14% de los animales en estudio del Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi. Anexo 12.

Tabla 14. Resultados de la prueba de brucelosis mediante el test de inmunofluorescencia indirecta IFI

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	86	86,0	86,0	86,0
Positivo	14	14,0	14,0	100,0
Total	100	100,0	100,0	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña



Ilustración 28. Gráfico circular de los resultados de la prueba de *Brucella canis* mediante el test de inmunofluorescencia indirecta IFI

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Prevalencia de brucelosis canina

Hay una prevalencia de brucelosis canina del 12 % en toda la población muestreada el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi, independientemente de la prueba realizada.

Tabla 15. Prevalencia de brucelosis canina

	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	278	88,0
Positivo	38	12,0
Total	316	100,0

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

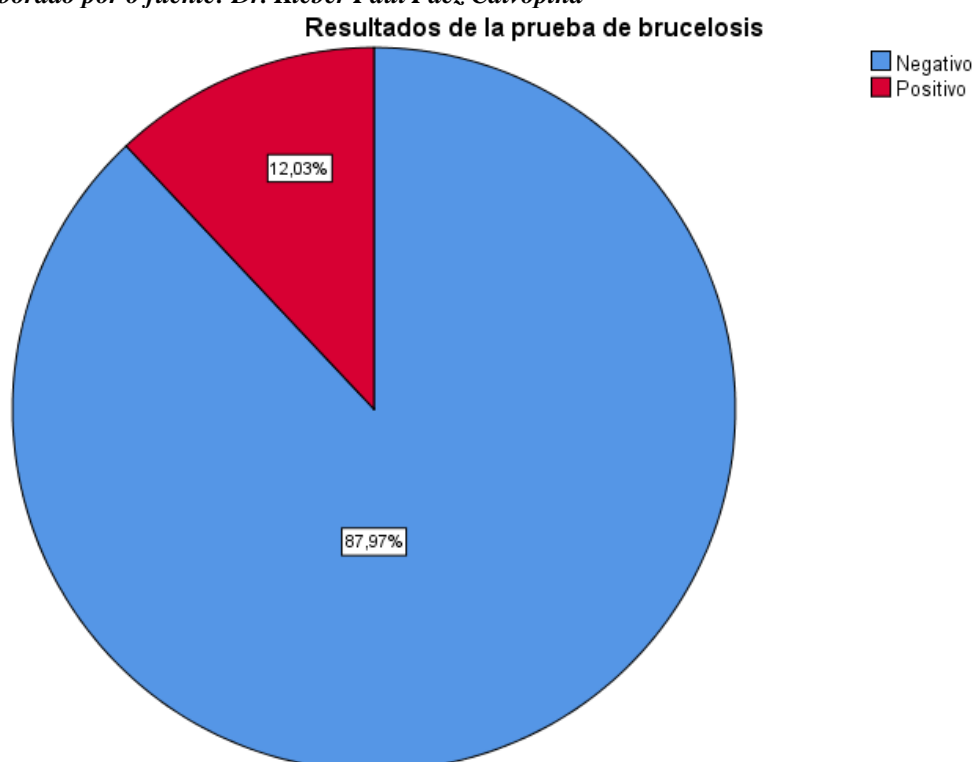


Ilustración 29. Gráfico circular de la prevalencia de la *Brucella canis* en el total de la población de estudio

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Hay una prevalencia de brucelosis del 12,7% entre los canes machos y del 11,9% entre las hembras, esto debido a que el sexo no es una variable determinante en la presencia o ausencia de la enfermedad.

Tabla 16. Prevalencia de brucelosis canina en función del sexo

		Resultados de la prueba de brucelosis		Total	
		Negativo	Positivo		
Sexo	M	Recuento	48	7	55
		% dentro de Sexo	87,3%	12,7%	100,0%
	H	Recuento	230	31	261
		% dentro de Sexo	88,1%	11,9%	100,0%
Total	Recuento	278	38	316	
	% dentro de Sexo	88,0%	12,0%	100,0%	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

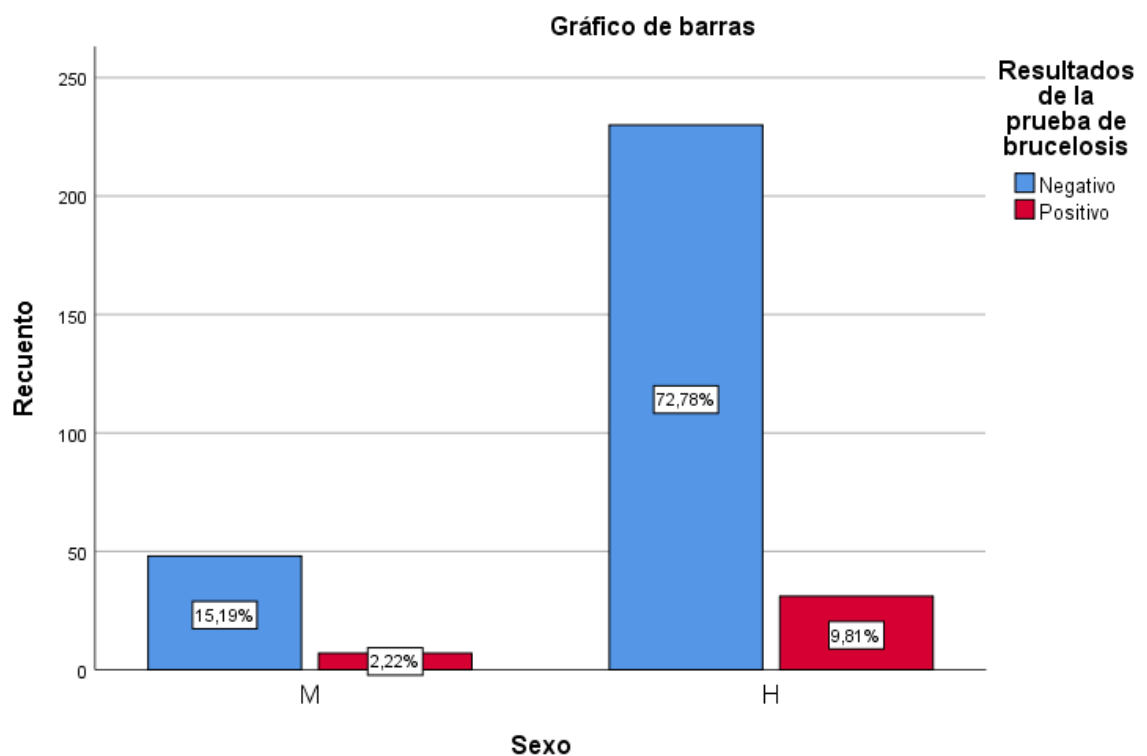


Ilustración 30. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de *Brucella canis* por sexo del total de la población en estudio

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

La tabla 17. muestra valores de prueba (Significación asintótica) mayores a 0,05 en el test Chi cuadrado y sus pruebas confirmatorias. Esto indica que, con un nivel de

significancia del 5% y 1 grado de libertad, no hay asociación entre la brucelosis y el sexo de los canes.

Tabla 17. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y sexo

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,031	1	,860
Corrección de continuidad	,000	1	1,000
Razón de verosimilitud	,031	1	,861
Asociación lineal por lineal	,031	1	,860
N de casos válidos	316		

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Hay una prevalencia de brucelosis del 11,9% entre los canes mestizos, como ya se explicó anteriormente existe la tendencia de esterilizar animales de estas características con fines comerciales, sin embargo, el parámetro “raza” tampoco es determinante para la presencia o ausencia de la enfermedad.

Tabla 18. Prevalencia de brucelosis canina en función de la raza

		Resultados de la prueba de brucelosis		Total
		Negativo	Positivo	
Mestizo	Recuento	208	28	236
	% dentro de Raza	88,1%	11,9%	100,0%
Beagle	Recuento	1	0	1
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Caniche	Recuento	25	3	28
	% dentro de Raza	89,3%	10,7%	100,0%
Cocker	Recuento	0	1	1
	% dentro de Raza	0,0%	100,0%	100,0%
Dachshund	Recuento	4	0	4
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Doberman pincher	Recuento	1	0	1

	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Golden retriever	Recuento	8	0	8
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Husky	Recuento	5	1	6
	% dentro de Raza	83,3%	16,7%	100,0%
Labrador	Recuento	2	0	2
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Mastín napolitano	Recuento	0	1	1
	% dentro de Raza	0,0%	100,0%	100,0%
Pastor alemán	Recuento	6	2	8
	% dentro de Raza	75,0%	25,0%	100,0%
Pequinés	Recuento	3	1	4
	% dentro de Raza	75,0%	25,0%	100,0%
Pitbull	Recuento	6	0	6
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Pomerania	Recuento	2	0	2
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Rottweiler	Recuento	1	1	2
	% dentro de Raza	50,0%	50,0%	100,0%
Schnauzer	Recuento	4	0	4
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Viejo Pastor ingles	Recuento	1	0	1
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%
Otras	Recuento	1	0	1
	% dentro de Raza	100,0%	0,0%	100,0%

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

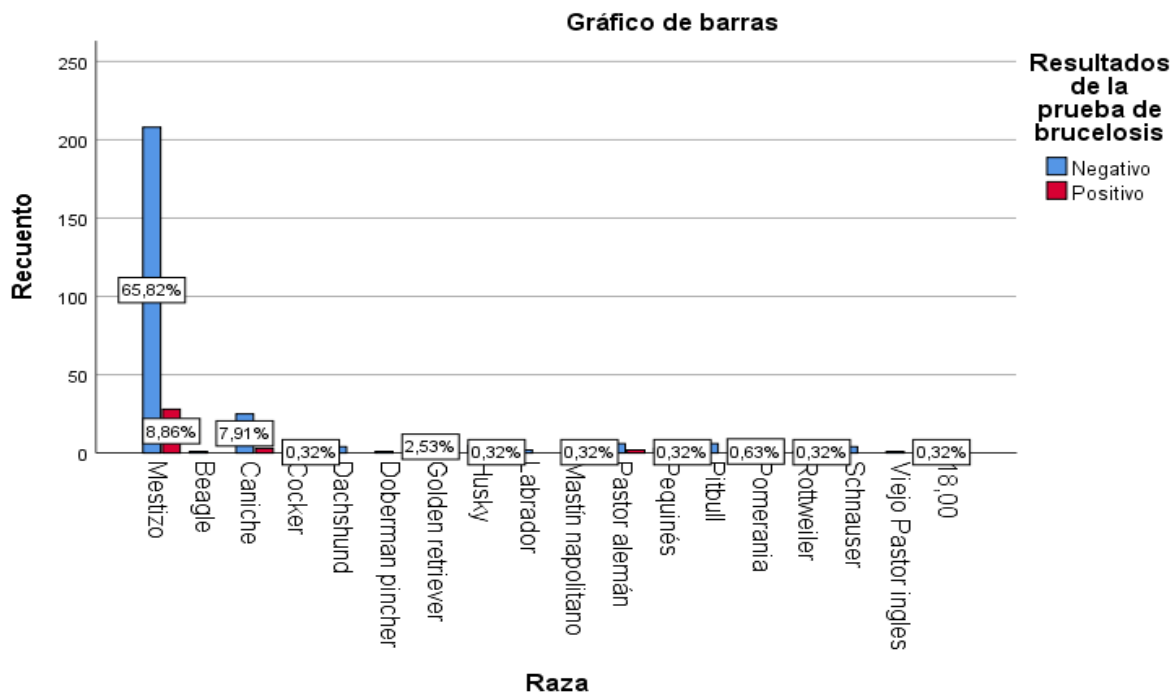


Ilustración 31. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de *Brucella canis* por raza del total de la población en estudio.

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paul Páez Calvopiña

La tabla 19. muestra valores de prueba (Significación asintótica) mayores a 0,05 en el test Chi cuadrado y sus pruebas confirmatorias. Esto indica que, con un nivel de significancia del 5% y 17 grado de libertad, no hay asociación entre la brucelosis y la raza de los canes.

Tabla 19. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y raza

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	23,541	17	,132
Razón de verosimilitud	19,563	17	,297
Asociación lineal por lineal	,057	1	,811
N de casos válidos	316		

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paul Páez Calvopiña

Hay una prevalencia de brucelosis del 6,3% entre los canes de 1 año, del 12,5% en los de 1 año y medio, del 12,6% en los de 2 años, del 25% en los de 2 años y medio, del 11,3% en los de tres años, del 8,1% en los de 4 años, del 18,2% en los de 5 años, del 11,1% en los de 6 años, del 33,3% en los de 9 años, del 20% en los de 10 años y del 100% en los de 12 años. Esto se puede explicar conociendo el hecho de que la mayoría de usuarios del servicio de esterilización de mascotas prefieren realizar el procedimiento cuando los animales aún no han tenido celo, para este caso es necesario mencionar que las perras pueden presentar este estado desde del seis meses hasta los dos años de edad, también existe la creencia de que para esterilizar a una mascota es necesario que hayan tenido por lo menos un parto.

Tabla 20. Prevalencia de brucelosis canina en función de la edad

		Resultados de la prueba de brucelosis		Total	
		Negativo	Positivo		
Edad	1,00	Recuento	30	2	32
		% dentro de Edad	93,8%	6,3%	100,0%
	1,50	Recuento	14	2	16
		% dentro de Edad	87,5%	12,5%	100,0%
	2,00	Recuento	90	13	103
		% dentro de Edad	87,4%	12,6%	100,0%
	2,50	Recuento	9	3	12
		% dentro de Edad	75,0%	25,0%	100,0%
	3,00	Recuento	55	7	62
		% dentro de Edad	88,7%	11,3%	100,0%
	3,50	Recuento	1	0	1
		% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%
	4,00	Recuento	34	3	37
		% dentro de Edad	91,9%	8,1%	100,0%
	4,50	Recuento	1	0	1
		% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%

5,00	Recuento	18	4	22
	% dentro de Edad	81,8%	18,2%	100,0%
6,00	Recuento	8	1	9
	% dentro de Edad	88,9%	11,1%	100,0%
7,00	Recuento	6	0	6
	% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%
8,00	Recuento	5	0	5
	% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%
9,00	Recuento	2	1	3
	% dentro de Edad	66,7%	33,3%	100,0%
10,00	Recuento	4	1	5
	% dentro de Edad	80,0%	20,0%	100,0%
12,00	Recuento	0	1	1
	% dentro de Edad	0,0%	100,0%	100,0%
13,00	Recuento	1	0	1
	% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%
Total	Recuento	278	38	316
	% dentro de Edad	88,0%	12,0%	100,0%

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

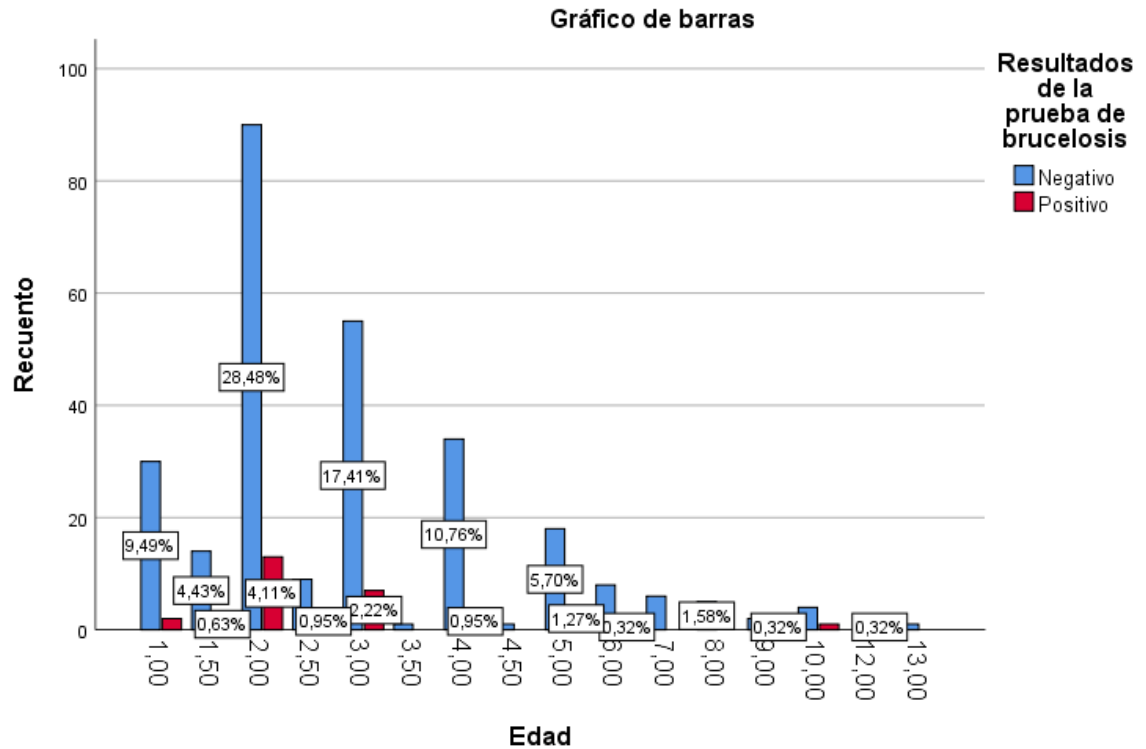


Ilustración 32. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de *Brucella canis* por edad del total de la población en estudio

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

La tabla 20. muestra valores de prueba (Significación asintótica) mayores a 0,05 en el test Chi cuadrado y sus pruebas confirmatorias. Esto indica que, con un nivel de significancia del 5% y 15 grado de libertad, no hay asociación entre la brucelosis y la edad de los canes.

Tabla 21. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina y edad

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	15,138	15	,442
Razón de verosimilitud	13,097	15	,595
Asociación lineal por lineal	,830	1	,362
N de casos válidos	316		

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

Hay una prevalencia de brucelosis del 7,9% entre los canes que no han tenido partos o montas. A su vez, hay una prevalencia del 12,6% entre los canes que han tenido partos o montas. En este caso sabemos que a pesar que esta patología se considera una enfermedad de tipo venéreo, la mayoría de veces la infección se transmite en un grupo de animales por vía oral.

Tabla 22. Prevalencia de brucelosis canina en función del historial reproductivo

		Resultados de la prueba de brucelosis		Total	
		Negativo	Positivo		
Partos/montas	No	Recuento	35	3	38
		% dentro de Partos/montas	92,1%	7,9%	100,0%
	Si	Recuento	243	35	278
		% dentro de Partos/montas	87,4%	12,6%	100,0%
Total	Recuento	278	38	316	
	% dentro de Partos/montas	88,0%	12,0%	100,0%	

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

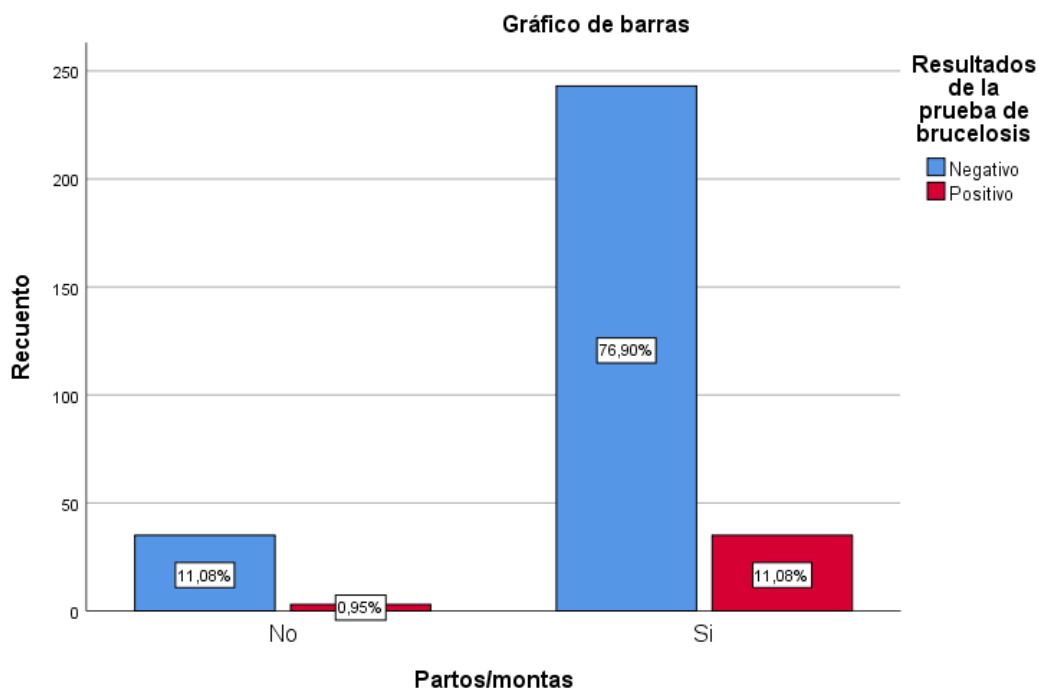


Ilustración 33. Gráfico de barras agrupadas de la prevalencia de *Brucella canis* por historial reproductivo del total de la población en estudio

Elaborado Por o Fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

La tabla 22. muestra valores de prueba (Significación asintótica) mayores a 0,05 en el test Chi cuadrado y sus pruebas confirmatorias. Esto indica que, con un nivel de significancia del 5% y 15 grado de libertad, no hay asociación entre la brucelosis y el historial reproductivo de los canes.

Tabla 23. Prueba Chi cuadrado - brucelosis canina e historial reproductivo

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,697	1	,404
Corrección de continuidad	,323	1	,570
Razón de verosimilitud	,770	1	,380
Asociación lineal por lineal	,694	1	,405
N de casos válidos	316		

Elaborado por o fuente: Dr. Kléber Paúl Páez Calvopiña

DISCUSIÓN:

En este estudio se determinó cuál es la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) presente en los animales atendidos en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Intercultural Municipal del Cantón Pujilí desde octubre del 2019 a diciembre del 2020, para lo cual se extrajeron muestras sanguíneas de 316 animales.

El diagnóstico canino de la infección por *Brucella canis* es difícil debido a la inestabilidad de los títulos de anticuerpos séricos que varían de acuerdo a la fase de la enfermedad, sea aguda o crónica así como entre los diferentes métodos utilizados para su detección, en este estudio el diagnóstico se basa en la evidencia serológica sin embargo debido a que la bacteria se expulsa en forma intermitente un resultado negativo no se puede utilizar como criterio de exclusión de presencia de brucelosis canina en el animal por lo que se debe realizar el seguimiento de los casos sospechosos de la enfermedad (82).

Por lo señalado anteriormente, se seleccionó para determinar anticuerpos contra *Brucella canis*, dos pruebas:

La primera, una prueba comercial basada en la detección de la bacteria en formato de un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral (LFIA), Bionote Inc. Anigen Rapid C. *Brucella* AbTest Kit®; esta prueba proporciona un diagnóstico serológico rápido de brucelosis canina, debido a que los resultados se obtienen en un periodo corto de tiempo y son comparables en efectividad a los obtenidos por otros tipos de ensayos, en esta prueba el nivel de especificidad es del 100 % y el nivel de sensibilidad es del 93 %, a este ensayo fueron sometidos 216 animales.

Basados en el nivel de especificidad del 100 % de esta prueba diagnóstica, se puede deducir que los anticuerpos positivos detectados por esta prueba son originados por el contacto previo específico a *Brucella canis*; sin embargo, por su nivel de sensibilidad del 93 %, se puede inferir que al menos el 7 % de los resultados negativos podrían no ser verdaderos negativos (99).

La segunda prueba realizada es la de inmunofluorescencia secundaria o indirecta IFI, a la cual fueron sometidos muestras de suero sanguíneo de 100 animales en condiciones similares a la prueba anterior.

Los resultados de este estudio indican una prevalencia elevada en los animales que ingresan en el Centro de Esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí; 11.11% resultados positivos mediante el ensayo de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA de uso comercial y 14% mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI, dando un promedio poblacional de 12.55% de perros seropositivos a *Brucella canis* en distintos estadios de infección.

Las variables analizadas en este estudio, como son, sexo, raza, edad e historial reproductivo de los animales estadísticamente no presentan asociación con la presencia o no del microorganismo dentro de la población muestra, tampoco con el método de diagnóstico utilizado para la identificación del patógeno, esto debido a que cualquier espécimen canino expuesto a la bacteria en su medio ambiente es propenso a la infección y a presentar la enfermedad independientemente de su estado, como se determina en este estudio.

A nivel nacional y local existen estudios limitados sobre la prevalencia de la enfermedad, a nivel de Latinoamérica existen varios trabajos en los que los resultados, aunque presentan una ligera varianza en el porcentaje de incidencia están aproximadamente acorde a los expuestos en esta investigación, como sabemos la presencia de *Brucella canis* está documentada a nivel mundial, sin embargo, algunos de artículos indican presencias bajas o nulas en algunos sectores aislados pero en países vecinos como Perú y Colombia esta tasa tiene aproximación a la encontrada en esta investigación, varios de estos trabajos se mencionan más adelante.

La brucelosis canina ha sido informada en Latinoamérica con rangos de prevalencia de hasta el 30%, mientras que en los estados del sur de los EE.UU se han comunicado seroprevalencias de hasta el 6% en perros (109, 110).

Ballut y colaboradores mediante un estudio epidemiológico en el cual se seleccionaron 62 hembras caninas adultas de diferentes áreas urbanas de Montería (Colombia) para determinar anticuerpos contra *Brucella canis*, se utilizó una prueba inmunoensayo cromatográfico de uso comercial; la seroprevalencia de la bacteria fue del 6,45%; el 88,71% de las hembras tuvo historia reproductiva normal y el

11,29% se clasificó como anormal por el reporte de abortos y reabsorciones embrionarias; el 4,84% de las hembras con historial normal fueron seroprevalentes, mientras el historial del 1,61% de las seroprevalentes tuvo historial reproductivo anormal (44).

Igualmente se buscó la presencia de anticuerpos de brucelosis en la población de dos albergues caninos del municipio de Envigado (Antioquia, Colombia) por Agudelo y colaboradores; a tal fin se seleccionaron 54 perros, se tomaron muestras sanguíneas en 10 machos y 44 hembras que fueron procesadas bajo la técnica de inmunocromatografía; no se encontró evidencia serológica de la presencia de brucelosis canina en el grupo de animales muestreados. (24).

El mismo investigador estableció la seroprevalencia de brucelosis canina en perros domésticos de 11 comunas de la ciudad de Medellín (Colombia), fueron analizados por ensayo inmunocromatográfico 441 muestras de suero canino; la seroprevalencia de brucelosis fue 2,76 %, la mayor seroprevalencia fue en machos (4,6 %), caninos criollos (4,8 %), menores de un año (3,7 %), caninos de viviendas (4,5 %), y en aquellos que han permanecido con el dueño por más de 5 meses (3,1 %) (111).

Otro estudio se realizó en caninos de 8 áreas de la ciudad de Buenos Aires Argentina por Boeri y colaboradores, se estudiaron 219 perros, 184 hembras y 35 machos, se utilizó la prueba de aglutinación con antígeno tamponado (BPAT); se detectaron anticuerpos de *Brucella canis* en 16 perros (7.3%), 9 hembras y 7 machos, este último dato es relevante ya que la orina de los machos es considerada uno de los medios de diseminación de la infección. Sólo 3 de los dueños de los perros positivos accedieron al diagnóstico serológico y dos resultaron positivos (112).

Se determinó la seroprevalencia de brucelosis canina en perras de la ciudad de Concepción Paraguay por Colman y colaboradores, para el efecto fueron sometidas a estudio 52 muestras de suero sanguíneo de perras adultas sin distinción de raza, las cuales fueron analizadas mediante el test inmunocromatográfico a *Brucella canis* de uso comercial; los resultados indican 9,6% de positivos, todas de raza mestiza de 2 a 4 años de edad (113).

En el laboratorio de la Universidad de Antioquia Colombia, se ofrece el diagnóstico, con la prueba tamiz de aglutinación rápida, en placa con 2β-

mercaptoetanol y hemocultivo confirmatorio; a partir de los resultados obtenidos de los pacientes remitidos a este laboratorio, se halló una frecuencia de presentación del 11% de seropositividad, en el ámbito regional, este estudio lo realizó Giraldo y colaboradores (114).

Se evaluó la seroprevalencia de brucelosis canina en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú por Maza y colaboradores, se recolectaron 288 muestras de sangre de canes mayores de dos meses de edad, mediante el método diagnóstico de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA); la seroprevalencia de brucelosis canina fue de $4.9 \pm 1.8\%$, sin encontrar un efecto significativo para las variables edad, sexo, condición fisiológica, hábitos de paseo e historia reproductiva (115).

Se determinó la prevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en dos distritos de la Provincia Constitucional del Callao Perú por Ramírez y colaboradores; se recolectaron 456 sueros de perros sin distinción de sexo, raza y edad, que se analizaron mediante la prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA); se encontró una prevalencia de 15.6 % (71/456). No se encontró diferencia estadística significativa entre las variables distrito, sexo, raza o grupo étnico, pero se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre animales con y sin historia reproductiva (116).

En el Centro de Bienestar Animal “La Perla” (Medellín, Colombia) Ruíz y colaboradores realizaron un estudio con el objetivo de determinar la frecuencia de esta infección en perros callejeros, se muestrearon 221 caninos y se realizó prueba de aglutinación rápida en placa; se encontró una seroprevalencia del 6.78%, y no hubo diferencia por grupos de edad o sexo (108).

En la ciudad de Temuco Chile Tuemmers y colaboradores analizaron 400 muestras de suero canino con el método de inmunocromatografía de uso comercial, en cuatro se encontraron anticuerpos contra *Brucella canis* lo cual representó una seroprevalencia de 1% (4/400) de esta bacteria en perros callejeros, de ellos la mitad (0,5%) eran machos, las cuatro muestras que resultaron positivas (1%) correspondieron a animales mayores de 1 año (11).

En un estudio realizado por Zabala y colaboradores en el distrito de Pucusana, Lima Perú, se colectaron 202 muestras de sangre de perros mayores a 6 meses de edad de

diversos grupos raciales, sexo e historial reproductivo; el análisis de los sueros se realizó mediante la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IDGA). El 21.3% (43/202) de los perros resultó seropositivo a anticuerpos contra *Brucella canis*. (117)

Prochazka y colaboradores realizaron un análisis serológico de brucelosis en caninos que acudieron a consulta veterinaria, entre los años 2013 a 2016, en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires Argentina; se procesaron 434 muestras por la prueba de RSAT; el 17% resultaron positivas, de los animales positivos, 88% fueron derivados por control preservicio y 12% por presencia de síntomas, el 77% de los animales positivos tenían entre 2 a 5 años de edad. (118)

En Tolosa, provincia de Buenos Aires Argentina Bonicatto estudió 149 caninos, 123 hembras y 26 machos, a los que se les extrajo sangre para el análisis mediante la prueba de aglutinación rápida en placa y para hemocultivo; todos los animales resultaron negativos a las pruebas diagnósticas realizadas. (119)

Anyaocha y colaboradores en África específicamente en los estados de Anambra y Enugu, Nigeria, examinaron un total de 123 perros de compañía, se usó la técnica de inmunoensayo en fase sólida con el kit de prueba de anticuerpos para brucelosis canina Immunocomb®; de los 123 perros analizados 34 (27.7%) dieron positivo para los anticuerpos de *Brucella canis*, la infección fue significativamente más alta ($P<0.05$) en las hembras que en los machos, sin embargo, hubo una relación significativa ($P<0.05$) entre la presencia de anticuerpos *Brucella canis* y los perros que deambulan de forma libre. (120)

En Santiago de Chile Sánchez y colaboradores muestrearon 449 perros de ambos sexos y mayores a 6 meses de edad, se les extrajo una muestra sanguínea, las cuales se analizaron a través de la técnica de ELISA indirecto; se obtuvieron 40 muestras positivas, lo que representa una seroprevalencia corregida de 8,7% de los animales muestreados, la mayoría provenientes de centros de esterilización municipales (74% del total) (121).

Se Determinó la prevalencia de *Brucella canis* de la población canina que ingresa al Centro de zoonosis de la ciudad de Villavicencio, Colombia por Cárdenas y colaboradores; bajo un muestreo aleatorio simple se estudiaron 150 caninos los

cuales se sometieron a un examen por la técnica de aglutinación para *Brucella canis*; se encontró una seroprevalencia general del 9.3% (14 caninos), 7 machos y 7 hembras (122).

En el poblado de Curicó Chile, entre los estudios enfocados en criaderos, cabe destacar el realizado por Troncoso y colaboradores, en el cual se procede a tomar muestras de 3 criaderos, analizando un total de 33 muestras de suero canino, obteniendo como resultado que el 18,18% de los cánidos eran seropositivos a través de la técnica de contrainmunolectroforesis, sin presentar diferencias significativas en la edad, el sexo y otros parámetros de los animales (123).

Obrist en la comunidad de San Bernardo, Chile, obtuvo un 11,25% de prevalencia a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), muestreando 80 perros clínicamente sanos de 2 poblaciones en edad reproductiva, no se tomaron otros parámetros de referencia en este estudio. (124).

Realizando el muestreo de alrededor de 363 perros y ocupando la técnica de contrainmunolectroforesis con antígeno LPS-R de *Brucella ovis*, se determinó un 16,8% de seropositividad en clínicas veterinarias de la ciudad de Santiago, Chile, en un trabajo realizado por Gómez (125).

En un trabajo realizado en la ciudad de Neuquén Argentina, en el barrio Colonia Rural Nueva Esperanza, Castro junto con la Dirección de Zoonosis y vectores de la municipalidad de Neuquén determinaron la presencia de *Brucella canis* y *Brucella suis* en muestras serológicas de perros y cerdos pertenecientes a la colonia; se recolectaron 162 sueros porcinos y 23 caninos y por medio de la técnica de microaglutinación en placa y BPA se determinó que todos eran serológicamente negativos a *Brucella canis* y *Brucella suis* (157).

Muñoz y colaboradores realizaron un relevamiento serológico y talleres para prevención de brucelosis, leptospirosis y leishmaniosis en caninos de la zona noroeste del conurbano bonaerense y en la localidad de Virasoro, Corrientes, y Oberá en Argentina; para el diagnóstico de brucelosis canina se utilizó la prueba de aglutinación rápida en placa (RSAT), ensayo indirecto por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Se obtuvo un total de 441 muestras, 251 del conurbano bonaerense y 190 de las ciudades de Virasoro y Oberá. En la región de Buenos

Aires, todos fueron sometidos a la prueba de RSAT, obteniendo un total de 15,9% sueros positivos (40 muestras). Se realizó ELISA a las 40 muestras para confirmar positividad y solo un 37,5% resultaron reactivas. El total de las muestras de Buenos Aires fueron analizadas con la técnica de MAT, mostrando como resultados una tasa de reactividad del 29,8%; en el caso de la zona del noroeste argentino, se analizaron 190 muestras para brucelosis canina 14,4%, con la técnica de RSAT (158).

Laverde y colaboradores establecieron mediante un estudio descriptivo de corte transversal la seroprevalencia de infección por *Brucella canis* en caninos de un refugio para animales de compañía destinados a adopción en Bogotá; se realizó la detección de anticuerpos contra *Brucella canis* en el suero de 51 perros (28 hembras y 23 machos) empleando un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. De manera complementaria, los individuos positivos fueron analizados por PCR para la detección de ADN de *Brucella spp.* La seroprevalencia encontrada para *Brucella canis* fue del 1,96% (1/51). El canino seropositivo correspondió a una hembra asintomática de tres años de edad en la cual no se detectó ADN bacteriano en sangre mediante PCR (159).

Se determinó la prevalencia de agentes zoonóticos en caninos y felinos en Medellín, Colombia por Castrillón y colaboradores, se examinaron 500 sueros caninos por medio de PARP-2ME y MAT para el diagnóstico de *Brucella canis* y *Leptospira spp.*, respectivamente, en caninos se evidenció una seroprevalencia del 6.6% para brucelosis canina y 8.4% para leptospirosis (161).

En las ciudades de Quito y Lasso con un número de 15 y 25 respectivamente, se efectuó un estudio tomando en cuenta sólo los animales mayores a 2 meses para determinar si existe la presencia de *Brucella canis*, se realizó una prueba ELISA indirecta para detectar la presencia de la bacteria; no se encontraron casos positivos en este estudio (144).

Tobar realizó una investigación tuvo como objetivo identificar la prevalencia de *Brucella canis* en los caninos domésticos de la comunidad de San Agustín de Callo, del Cantón Latacunga Provincia de Cotopaxi; el estudio se realizó en 75 caninos a los cuales se le aplicó la prueba Brucella Ab test kit, se obtuvo una prevalencia

general del 15 % es decir 11/75 casos fueron positivos. Los factores asociados a los positivos son la edad, un gran porcentaje de animales positivos se encuentra en el rango de 1 – 5 años (160).

En un estudio realizado por Hormazabal y colaboradores en la sección de Bacteriología, Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) se identificaron taxonómicamente 15 aislamientos de *Brucella spp* entre el 2009 y abril del 2014 pertenecientes a casos humanos de la enfermedad; en este periodo, se han presentado aproximadamente 35 casos de brucelosis humana, estos fueron sometidos a pruebas serológicas, bioquímicas y PCR en tiempo real; de los 15 casos estudiados, 3 correspondían a *Brucella canis*, especie que se consideraba inusual en humanos (126).

El carácter zoonótico de la enfermedad en seres humanos convivientes con caninos infectados en ambientes domésticos se ha descrito en forma esporádica desde 1975. En el contexto suramericano se han venido diagnosticando casos humanos principalmente en Argentina desde 2005 cuando realizan una búsqueda activa de casos y en el 2010 cuando se reporta por primera vez un brote epidémico asociado a *Brucella canis*, pasando por el reporte de un caso de brucelosis canina en un paciente con VIH (17, 98, 127, 128).

Basados en las características reportadas en esta serie de trabajos argentinos y unido al conocimiento que aportó la descripción en el 2005 del caso humano procedente de la Medellín, el riesgo zoonótico de transmisión de *Brucella canis* puede considerarse alto para las personas que por su ocupación cuidan de los caninos en las perreras de cría o están expuestos estrechamente a animales infectados, como puede ser el caso del personal de centros veterinarios, al igual que también deben incluirse personas inmunodeficientes, niños o mujeres embarazadas (80).

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- La prevalencia de brucelosis canina en los animales que ingresaron en el Centro de esterilización Canina y Felina del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí es del 12 % de la población en estudio; el riesgo de transmisión a los humanos de esta enfermedad zoonótica en ambientes domésticos puede considerarse en aumento por la presencia de animales positivos lo que implica un riesgo epidemiológico para la salud pública.
- La incidencia de brucelosis canina en muestras sometidas a la prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA, fue a nivel general del 11.11%; los resultados de brucelosis canina arrojados por la prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI fue del 14% de la población en estudio.
- Independientemente de la prueba realizada, el porcentaje total de casos positivos en las variables analizadas fueron los siguientes: SEXO: hembras (31.64%), machos (7.59%); RAZA: mestiza (8.86%), otras razas (3.16%); EDAD: 1-2 años (5.37%), 2-5 años (5.37%), mayores de 5 años (1.26%); HISTORIAL REPRODUCTIVO: normal (9.81%), anormal (2.21%).

5.2 RECOMENDACIONES

- Debido a la seropositividad encontrada para *Brucella canis* en los animales ingresados en el Centro de Esterilización Canina y Felina del GADMICP y el carácter zoonótico de la enfermedad, se hace necesario realizar una mayor investigación de tipo epidemiológico en la zona, coordinar con las entidades involucradas en el área de salud pública e implementar medidas preventivas y de control para la enfermedad.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sierra V, Jiménez JD, Alzate AA, Cardona JA, Ríos LA. Prevalencia de parásitos intestinales en perros de dos centros de bienestar animal de Medellín y el oriente Antioquia (Colombia) [Internet]. Rev Med Vet. 2015; (30):55-66. Disponible en: <http://doi.org/10.19052/mv.3609>
2. Carmichael LE, Joubert JC. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. [Internet]. Cornell Vet 1987; 77: 3–12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3802828/>
3. Greene C E; Carmichael L E. Canine Brucellosis In Greene. Infectious Diseases of the dog and cat. [Internet]. 4th ed, Saunders Elsevier. 2012; 398-411. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/infectious-diseases-of-the-dog-and-cat/sykes/978-1-4160-6130-4>
4. Saunders E. (2004). Libro de texto de medicina interna veterinaria. [Internet]. Washington, E.E.U.U: Saunders Company. Disponible en: https://issuu.com/revistahospitalesveterinarios/docs/revista_vol_3_n_2_junio_2011/17
5. Zavala M, Morales S. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella canis* en perros del distrito de Pucusana, Lima, Perú. [Internet] Rev Investig Vet Perú. 2016 abr.;27 (2): 370–374. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172016000200020&script=sci-abstract>
6. Shin S, Carlmichael LE. 1999. Canine brucellosis caused by *Brucella canis*. In: Carmichael LE (ed). Recent advances in canine infectious diseases. [Internet]. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service. [Internet]. Disponible en: www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/shin/chapter_frm.asp?LA=1.
7. Larsson M. H. M. A.; da Costa, E. O. 1980. Isolation of *Brucella canis*. International Journal of Zoonoses, [Internet]. 7: 125-130. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7251257/>

8. Noyma M, et al. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. [Internet]. 2009 Cienc. Rural. 39(7): 2252- 2260. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009005000167&script=sci_abstract
9. Young E. 2006. *Brucella* spp. In: Gillespie, S.; Hawkey, P. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. [Internet]. 2° Edición. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex. Chichester, England. pp. 265- 271. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/151069/Seroprevalencia-de-brucelosis-canina-en-perros-con-due%C3%B1o-del-gran-Santiago-y-factores-de-riesgo-asociados-a-su-presentaci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Skendros P, Pappas G, Boura P. Cell-mediated immunity in human brucellosis microbes infect [Internet]. 2011; 13:134-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21034846/>
11. Swenson RM, Carmichael LE, Cundy KR. Human infection with *Brucella canis*. [Internet]. Ann Int Med 1972;76: 435-438. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5062778/>
12. Taylor JP, Perdue JN. The changing epidemiology of human brucellosis in Texas, [Internet]. 1977-1986. Am J Epidemiol 1989; 130: 160-165. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2787107/>
13. Ardoino SM, Baruta DA, Toso RE. Brucellosis Canina. Ciencia Veterinaria [Internet]. 2006; 8:1, 51-55. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v61n2/v61n2a03.pdf>
14. Onofre E. Prevalencia de *Brucella canis* en perros atendidos en la clínica veterinaria “Santa Prisca” de la ciudad e Ambato. [Internet]. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil 2014. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 18, núm. 11, noviembre, 2017, pp. 1-11. Málaga, España. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574018.pdf>
15. López G; Ayala SM; Efron AM; Gómez CF; Lucero N. A serological and bacteriological survey of dogs to detect *Brucella* infection in Lomas de Zamora, Buenos Aires province. [Internet]. Revista Argentina de Microbiología, 2009; 41 (2) 112-115. <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016783007.pdf>
16. Delrue RM, Martinez-Lorenzo M, Lestrade P, et al. Identification of *Brucella* spp. Genes involved in intracellular trafficking. [Internet]. Cell

- Microbiol. 2001; 3:487-497. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11437834/>
17. Luna L. *Detecting Brucella species in Ecuador*. [Internet]. Obtenido de Repositorio USFQ: 2015. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4486/1/113602.pdf>.
 18. Wanke M. 2004. Canine brucellosis. [Internet]. Animal Reproduction Science 82-83: 195-207. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15271453/>
 19. Hollet RB. Canine brucellosis. [Internet]. Outbreaks and compliance. Theriogenology 2006; 66: 575-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16716382/>
 20. Cardeñosa Marin N. Estudios seroepidemiológicos. [Internet]. Rev Esp en Salud Pública 2009; 83 (5): 607-610. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-57272009000500002&script=sci_abstract
 21. Davidson A, Sykes J. 2014. Canine Brucellosis. Canine and Feline Infectious Diseases. [Internet]. Elsevier. Missouri. St. Louis, USA. pp. 512-519. Disponible en: <https://ucdavis.pure.elsevier.com/en/publications/canine-brucellosis>
 22. Carmichael LE, Joubert JC. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. [Internet]. Cornell Vet 1987; 77: 3–12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3802828/>
 23. Código Orgánico Del Ambiente COA: Registro Oficial Suplemento 983 [Internet]. del 12-abr.-2017. Disponible en https://www.ambiente.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2018/01/CO-DIGO_ORGANICO_AMBIENTE.pdf
 24. Parker HG (febrero de 2012). Genomic analyses of modern dog breeds. [Internet]. Mamm Genome (Revisión) 23 (1-2): 19-27. PMC 3559126. PMID 22231497. Disponible en: <https://xdocs.pl/doc/canis-lupus-familiaris-wikipedia-la-enciclopedia-libre-qnjxkgxxwm86>. Doi:10.1007/s00335-011-9387-6.
 25. Axelsson E. La firma genómica de la domesticación del perro revela la adaptación a una dieta rica en almidón. [Internet]. Archivado desde el original el 2 de abril de 2013. Consultado el 14 de mayo de 2013. Revista Nature. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23354050/>

26. Viano L. ¿Había perros en América cuando llegaron los españoles?. [Internet]. Revista Scientific American 2015. Disponible en: <https://www.scientificamerican.com/espanol/noticias/habia-perros-en-america-cuando-llegaron-los-espanoles/>
27. Mazzatenta A, Carluccio A, Robbe D, Giulio CD, Cellerino A. The companion dog as a unique translational model for aging. [Internet]. Semin Cell Dev Biol 2017. 70: 141-153. PMID 28803893. Disponible en: doi:10.1016/j.semcdb.2017.08.024.
28. Coppinger Ray (2001). Dogs: a Startling New Understanding of Canine Origin, Behavior and Evolution. [Internet]. pp. p352. 0684855305. Disponible en: <https://www.amazon.com/Dogs-Startling-Understanding-Behavior-Evolution/dp/0684855305>
29. Lopez B. Of wolves and men. [Internet]. p. 320. ISBN 0-7432-4936-4. 1978. Disponible en: <https://www.fantasticfiction.com/l/barry-lopez/of-wolves-and-men.htm>
30. Dewey T.; S. Bhagat (2002). Canis lupus familiaris [Internet]. Animal Diversity Web. Consultado el 6 de enero de 2009 a Animaldiversity. Disponible en: https://issuu.com/aagguilar/docs/es.wikipedia.org-canis_lupus_famili
31. Sexual Maturity - Spay and neutro. [Internet]. Archivado desde el original el 10 de junio de 2009. Consultado el 22 de octubre de 2008. Disponible en: <http://oer2go.org/mods/es-wikipedia-static/content/a/perro.html>
32. Normal gestation in dogs. [Internet]. Archivado desde el original el 9 de octubre de 2008. Consultado el 22 de octubre de 2008. Disponible en: <http://oer2go.org/mods/es-wikipedia-static/content/a/perro.html>
33. HSUS Pet Overpopulation Estimates. [Internet]. The Humane Society of the United States. Consultado el 22 de octubre de 2008. Disponible en: <https://www.humanesociety.org/resources/pets-numbers>
34. Robinson Roy (1990). Genetics for Dog Breeders. [Internet]. Ficha en OpenLibrary: Butterworth-Heinemann Limited. pp. 280 p. 15. ISBN 9780750646123. Disponible en: <https://www.abebooks.co.uk/book-search/title/genetics-dog-breeders/author/roy-robinson/>
35. Maqueda A. Taxonomía del perro doméstico [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.expertoanimal.com/taxonomia-del-perro-23771.html>

36. Ramsey I., & Brynt, T. (2006). Manual De Enfermedades Infecciosas En Pequeños Animales (Segunda ed.). [Internet]. Valencia, España. Disponible en: <https://axon.es/ficha/libros/9788487736605/manual-de-enfermedades-infecciosas-en-pequenos-animales-coleccion-bsava>
37. Barlough J. (2007). Manual de las enfermedades infecciosas en pequeños animales. [Internet]. Los Angeles, California: Editorial Médica Panamericana. Disponible en: https://issuu.com/editorialservet/docs/p54220_enfermedades_infecciosas_can
38. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. [Internet]. J Med Microbiol. 2005;54:457-61. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15824423/>
39. Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA. Human infection with M-strain of *Brucella canis*. [Internet]. Emerg Infect Dis. 2004;10:146-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15078613/>
40. Greene C. (2008). Enfermedades infecciosas del perro y del gato (Tercera ed.). [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica. Disponible en: http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/g/r/greene.pdf
41. Solis T. (2008). Cinética de anticuerpos en terneras inmunizadas contra *brucella*, mediante la vacuna de cepa 19 (B-19). [Internet]. Tesis, Sangolquí. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2507>
42. Suárez F. (2001). Diagnóstico de Brucelosis animal. [Internet]. México, México: Arellano. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reference.php?pid=S0253-570X2009000300005&caller=scielo.sld.cu&lang=es>
43. Azañón A. (2003). Detección de anticuerpos de *Brucella canis* y *B abortus*, en perros de la colonia la Florida. Guatemala [Internet]. Universidad de San Carlos de Guatemala. Disponible en: <file:///C:/Users/User/Downloads/7309-Texto%20del%20art%C3%ADculo-25868-1-10-20191203.pdf>
44. Ballut JC, Calderón A, Rodríguez V. Brucelosis en hembras caninas en Montería (Colombia): un problema para la salud pública. [Internet] Biosalud. 2013;12(2):66-74. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a06.pdf>

45. Briseño González, H.; Páramo Ramírez, R. M.; Flores Castro, R.; Suárez Güemes, F. 2004. Problemas reproductivos en perros machos infectados con *Brucella canis*. [Internet]. Veterinaria México, 35: 121-128. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=6834>
46. Ardonio S, Baruta D, Toso R. Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. [Internet] Acceso 19 de mayo del 2013. Disponible en: http://www.vet.unlpam.edu.ar/archivos/revistas/RevistaCiencia_Veterinaria_Volumen_8.pdf.
47. Borie C, Cepeda R, Villaroel M, De los Reyes M. 2002. Descripción de careproductivas en tres perros seropositivos a *Brucella canis*. [Internet]. Arch Med Vet 34: 111-116. Disponible en: doi: 10.4067/S0301-732X2002000100012. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301732X2002000100012
48. Lucero N. E.; Escobar, G. I.; Ayala, S. M.; Lopez, G. 2002. Sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunoassay for the diagnosis of *Brucella canis* infection in dogs. [Internet]. Journal of Medical Microbiology, 51: 656-660. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/11216326_Sensitivity_and_specificity_of_an_indirect_enzymelinked_immunoassay_for_the_diagnosis_of_Brucella_canis_infection_in_dogs
49. Estein SM. Brucelosis: Inmunidad y vacunación [Internet]. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET 2006; VII: 05. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612665001.pdf>
50. Johnson C. A.; Bull, R. W.; Schirmer, R. G. 1983. Peripheral lymphocyte function in dogs with *Brucella canis* infection. [Internet]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 4: 425-431. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3975479/>
51. Carmichael LE, Joubert JC, Jones L. Characterization of *Brucella canis* protein antigens and polypeptide antibody responses of infected dogs. [Internet]. Vet Microbiol 1989; 19: 373-387. Disponible en: https://www.creative-biolabs.com/vaccine/target-brucella-8.htm?gclid=CjwKCAiApNSABhAlEiwANuR9YCGhLOva2cq2ed1aEo6ume0HcgJphQxp_YFM8cXdweHozhz8OYFmqBoC9R4QAvD_BwE
52. Smartino L. (2003). Evaluación de la vacuna RB51 de *Brucella abortus* en hembras bovinas preñadas. [Internet]. Buenos Aires: Rivera. Disponible en:

<https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Evaluacion-en-campo-de-la-eficacia-vacunal.pdf>

53. SPICKLER, A. 2009. Canine Brucellosis: *Brucella canis*. [Internet]. In: The Center for Food Security & Public Health. <<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf> >. [consulta: 09-06-2016]. Disponible en: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucellosis_canis-es.pdf
54. ABALOS, P. 2010. Brucelosis. In: Retamal, P.; Abalos, P.; Fredes. F. Enfermedades animales producidas por agentes biológicos. [Internet]. Ed. Universitaria. Santiago, Chile. pp. 33-37. Disponible en: <https://www.uchile.cl/publicaciones/70592/enfermedades-animales-producidas-por-agentes-biologicos>
55. Stoffregen W. (2007). *Diagnostic characterization of a feral swine herd enzootically infected with Brucella*. [Internet]. *J Vet Diagn Invest*. Dember: Livestock. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17459850/>
56. Hollett RB. 2006. Canine brucellosis: outbreaks and compliance. [Internet] *Theriogenology* 66: 575-587. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.04.011. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v27n2/a21v27n2.pdf>
57. Manias V, Nagel A, Mollerach A, Mendosa M, Freyre H, Gómez A, et al. Endocarditis por *Brucella canis*: primer caso documentado en un paciente adulto en Argentina. [Internet]. *Rev Argent Microbiol*. [Internet]. 2013 Mar [citado 2017 Mar 27] ; 45 (1):50-53. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo>.
58. Pardo A, Pérez C, Gongora A, Gómez L, Moreno A. Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio-Colombia. [Internet] *Revista MVZ Córdoba*. 2009 [citado 21 de abril de 2017]; 14(2):1690-1696. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69312277005>.
59. Sorden S. Brucelosis canina: *Brucella canis*. Whistler, Canadá: The Center for Food Security & Public Health; 2009. [Internet]. Citado 19 de abril del 2013. Disponible en: <http://www.ivis.org>.
60. Agudelo P, Molina VM, Arias V, Madrigal E. 2014. Estudio serológico de brucelosis canina en dos albergues del municipio de Envigado, Colombia [Internet]. 2011. Disponible en: doi: 10.15446/rfmvz.v61n2.44676. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remvez/article/view/44676>

61. Johnson C, Walker R. 1992. Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis* infection. [Internet]. Comp Cont Educ Pract Vet 14: 763-772. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v27n2/a20v27n2.pdf>
62. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human *Brucella canis* infection. [Internet]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2013;36:55-61. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23040615/>
63. Mateu de Antonio, E. M.; Martin, M. 1995. In vitro efficacy of several antimicrobial combination against *Brucella canis* and *Brucella melitensis* strains isolated from dogs. [Internet]. Veterinary Microbiology, 45: 1-10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7653024/>
64. Wanke M. M.; Delpino, M. V.; Baldi, P. C. 2006. Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel [Internet]. Theriogenology, 11: 34-57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16476476/>
65. Ebani V. V.; Cerri, D.; Fratini, F.; Bey, R. F.; Andreani, E. 2003. Serological diagnosis of brucellosis caused by *Brucella canis*. [Internet]. New Microbiologica, 26: 65-73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12578313/>
66. Flores Castro, R.; Suárez, F.; Ramírez-Pfeiffer, C.; Carmichael, L. E. 1977. Canine Brucellosis: Bacteriological and Serological Investigation of Naturally Infected Dogs in Mexico City. [Internet]. Journal of Clinical Microbiology, 6: 591-597. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC274830/>
67. Nielsen K.; Smith, P.; Conde, S.; Draghi de Benitez, G.; Gall, D.; Halbert, G.; Kenny, K.; Massengill, C.; Muenks, Q.; Rojas, X.; Perez, B.; Samartino, L.; Silva, P.; Toilersrud, T.; Jolley, M. 2004. Rough lipopolysaccharide of *Brucella abortus* RB51 as a common antigen for serological detection of *B. ovis*, *B. canis*, and *B. abortus* RB51 exposure using indirect enzyme immunoassay and fluorescence polarization assay. [Internet]. Journal of Immunoassay and Immunochemistry, 25: 171-182. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/IAS-120030526>
68. Memish Z., & Balkhy, I. (2004). Brucellosis y viajes internacionales. [Internet]. Riyadh: Abdulaziz Medical. <https://www.uees.edu.ec/pdf/ueesmun/ONU-MUJERES.pdf>
69. Quinn L., Markey, B., & Hartigan, L. (2011). Microbiología veterinaria y enfermedades microbianas. [Internet]. Toronto: Fitzpatrick. Disponible en: <https://marbanlibros.com/microbiologia-enf-infecciosas/3579-quinn->

[markey-leonard-elementos-de-microbiologia-veterinaria-9788420011868.html](http://www.editorialacribia.com/libro/microbiologia-veterinaria-9788420011868.html)

70. Warrent L. (2005). Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. [Internet]. Boston: Brock. Disponible en: https://www.editorialacribia.com/libro/microbiologia-y-enfermedades-infecciosas-veterinarias_71482/
71. Ronald Q. (2005). Elementos de microbiología veterinaria. [Internet]. Illinois, Estados Unidos: Acribia. Disponible en: https://www.editorialacribia.com/libro/elementos-de-microbiologia-veterinaria_83727/
72. Vadillo S. (2004). Manual de microbiología veterinaria. [Internet]. Barcelona, España: McGraw-Hill. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=89681>
73. Romero J. (2008). Compendio de bacteriología médica veterinaria. [Internet]. Cataluña, España: Acribia. Disponible en: https://www.todostuslibros.com/libros/compendio-de-bacteriologia-medica-veterinaria_978-84-200-0574-4
74. Lucero N. (2004). Diagnostico serológico y bacteriológico de brucelosis humana y canina. [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Zoonosis. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000000525cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
75. Sánchez J. (2005). Elementos de microbiología veterinaria [Internet]. (Tercera ed.). Vancouver, Canadá: Acribia. Disponible en: https://www.editorialacribia.com/libro/elementos-de-microbiologia-veterinaria_53980/
76. Maurin M.; Raoult, D. 2001. Use of Aminoglycosides in Treatment of Infections Due to Intracellular Bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, [Internet]. 45: 2977-2986. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90771/>
77. Schleicher E. Ensayos de Diagnóstico. [Internet]. Química Bioanal. # Springer-Verlag 2009 (2009) 393:1391–1392. Publicado online enero 2009. Disponible en: file:///C:/Users/User/Downloads/Schleicher2009_Article_DiagnosticAssay_s.pdf DOI 10.1007/s00216-008-2589-4 (2009) 393:1391–1392

78. Warsinke A. Pruebas de proteínas en el lugar de atención. [Internet]. Química Bioanal. 2009; 393 (5): 1393-405. (2009) 393:1393-1405. Disponible en: Doi: 10.1007 / s00216-008-2572-0. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19130044/>
79. Ying Wan a. et al. An ultrasensitive electrochemical biosensor for the detection of mecA gene. [Internet]. Biosensors and Bioelectronics (IF 10.257) Pub Date : 2017-08-08 , DOI: 10.1016/j.bios.2017.08.014 (2013) Biosensors and Bioelectronics 47 1–11. Diponible en: <https://www.x-mol.com/paper/332205>
80. Von Lode P. Inmunotest en el lugar de atención: aproximación al rendimiento analítico de los métodos de laboratorio central [Internet]. (2005) Clin Biochem 38:591–606. Clin Biochem. 2005; 38 (7): 591-606. Disponible en: doi: 10.1016 / j.clinbiochem.2005.03.008. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16009140/>
81. Blanco L. Desarrollo de un Inmunoensayo de Flujo Lateral para la detección de PSA, [Internet]. Departamento de Química Física y Analítica, Oviedo, 2013. Disponible en: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19167/TFM%20Blanco%20Covian.pdf;jsessionid=D883460531D595221CA818AC6C5E2D62?sequence=3>
82. Attree S. Diagnóstico clínico especializado enfocado en áreas terapéuticas seleccionadas. [Internet]. 2020. Bio-Diagnostics Meeting. Disponible en: https://www.diagnostic.grifols.com/en/clinical-diagnostics?gclid=CjwKCAiAgc-ABhA7EiwAjev-j3c-MoviMYHQFnrU9HDxf_wZHFaGPhrnhr0GS4GqMC1S2LxPFbHRtRoC DNsqAvD_BwE
83. Posthuma Trumpie, G.A., Korf, J.and Van Amerongen.A. (2009) A literature survey. [Internet]. Anal Bioanal Chen 393:569-582. Disponible en: <http://asthmeequin.com/en/publications/>
84. Van Amerongen A, et al. Evaluation of the activity of colinesterase, environment and geolocalization of workers exposed in the agrarian community of Colonia Tovar, Venezuela [Internet]. 1994. Clin Chim Acta 229:67–75. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=79694>
85. Pérez L, Prueba IFAT inmunofluorescencia directa e indirecta. [Internet]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/AnclesPerez/prueba-ifat-inmunofluorescencia-directa-e-indirecta>. Publicado el 20 de nov. de 2014

86. Arrosi J, et al. Manual de normas y procedimientos para la vigilancia y control de la rabia. [Internet]. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur. Ministerio de Salud Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. 2007. Disponible en:
<https://www.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/cdmanualrabia/vigilancialaboratoriodiagnostico.html>
87. Hernández Ramírez, Cabiedes Javier. et al. Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes [Internet]. Reumatología Clínica, Vol.6. núm.3. pág. 173-177. México [citado mayo-junio 2010]. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-tecnicas-inmunologicas-que-apoyan-el-articulo-S1699258X09002411>
88. Burtis CA, Ashwood ER, Burns DE, Sawyer BG.(2008). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry [Internet]. Saunders (Elsevier) 6° ed. ISBN 978-0-7216-3865-2. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3547451/>
89. Inmunofluorescencia indirecta IFI. [Internet]. Interlab. 2015. Cuenca Ecuador <https://interlabsa.com/interlab/inmunofluorescencia-indirecta-ifi/>
90. Rumley R. L.; Chapman, S. W. 1986. *Brucella canis*: an infectious cause of prolonged fever of undetermined origin. [Internet]. Southern Medical Journal, 79: 626-628. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3704733/>
91. Lawaczek E, Toporek J, Cwikla J, Mathison BA. *Brucella canis* in a HIV infected patient. [Internet]. Zoonoses and Public Health 2011; 58(2):150-152. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21306578/>
92. Boeri E., Escobar, G., Ayala, S., Sosa, S., & Lucero, N. (Agosto de 2008). Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. [Internet]. Medicina (Buenos Aires), 4-5. Disponible en:
http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol68-08/4/v68_n4_p291_297.pdf
93. Palacios A. (1989). Detección de caninos seropositivos a *Brucella canis* utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa, aislamiento y confirmación de la bacteria. [Internet]. Guatemala, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Disponible en:
<http://www.repositorio.usac.edu.gt/5685/1/Tesis%20Med.%20Med.%20Miryam%20Evelin%20Gutierrez%20Barberena.pdf>

94. García J. Análisis en los estudios epidemiológicos. [Internet]. VI. Indicadores de riesgo. Madrid: Fundación para el Desarrollo de la Enfermería; 2006. (Nure Investigación, 21). Disponible en: <https://www.nureinvestigacion.es/OJS/index.php/nure/article/view/297>
95. Al Shamahy H, Whitty C, Wright S. Risk factors for human brucellosis in Yemen [Internet]. A case control study. *Epidemiol Infect* 2000; 125:309-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11117954/>
96. Buzgan T, Karahocagil M, Irmak H, Baran I, Karsen H, Evirgen O, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis [Internet]. 2010; 14:469-78. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19910232/>
97. Gomez N., & Guida, N. (2010). Enfermedades Infecciosas de los Caninos y Felinos. [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Inter – Médica. Disponible en: http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/g/o/gomez.pdf
98. Lucero N, Corazza R, Almuzara M, Reynes E, Escobar G, Boeri E, et al. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. [Internet]. *Epidemiol Infect* 2010; 138:280-5. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/human-brucella-canis-outbreak-linked-to-infection-in-dogs/9A0DA8DB7E1E98326499514FC62984DF>
99. Pacheco Ríos A. Mascotas en los hogares: enfermedades de los niños adquiridas por convivencia con animales. [Internet]. *Enferm Infecc Microbiol* 2003; 23:137-48. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2003/ei034d.pdf>
100. Olivera M, Di-Lorenzo C. Aislamiento de *Brucella canis* en un humano conviviente con caninos infectados, reporte de un caso. [Internet]. *Colomb Méd* 2009; 40:200-15. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1657-95342009000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=es
101. Baldi PC, Miguel SE, Fossati CA, Wallach JC. Serological follow up of human brucellosis by measuring IgG antibodies to lipopolysaccharide and cytoplasmic proteins of *Brucella* species. [Internet]. *Clin Infect Dis* 1996; 22:446-55. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3322762/>

102. Megid J, Britto A, Moraes C, Fava N, Agottani J. Epidemiological assessment of canine brucellosis. [Internet]. Arq Bras Med Vet Zootec 1999; 51:94-8. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000500007
103. Carmichael L, Green E. Canine brucellosis. In: Greene CE, editor. Infectious diseases of the dog and cat. [Internet]. Philadelphia: WB Saunders Co.; 1990. p. 573-4. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023450005.pdf>
104. Gyuranecz M, Szeredi L, Rónai Z, Dénes B, Dencso L, Dán A, et al. Detection of *Brucella canis* induced reproductive diseases in a kennel. [Internet]. J Vet Diagn Invest 2011; 23:143-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21217047/>
105. Stanchi N, Martino P, Gentilino P, Reinoso E, Echeverria N. Microbiología veterinaria. [Internet]. Buenos Aires: Editora Inter, -Médica; 2007. Disponible en: <http://unag2.metabiblioteca.com.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=6275>
106. Delpino MV, Fossati CA, Baldi PC. Proinflammatory response of human osteoblastic cell lines and osteoblast monocyte interaction upon infection with *Brucella* spp. [Internet]. Infect Immun 2009; 77:984-95. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2013001000014
107. López J, Peña A, Pérez R, Abarca K. Tenencia de mascotas en pacientes inmuno comprometidos: actualización y consideraciones veterinarias y médicas. [Internet]. Rev Chilena Infectol 2013; 30(1):52-62. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000100009
108. Ruíz, et al. Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del Centro de Bienestar Animal “La Perla”, Medellín (Colombia). [Internet]. Rev Colomb Cienc Pecu 2010; 23:166-172. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v23n2/v23n2a05.pdf>
109. Carmichael LE. *Brucella canis*. In: Nielsen K, Duncan JR (eds.) Animal Brucellosis. [Internet]. Boca Raton, Fl: CRC Press, 1990, p 335-

50. Disponible en: http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol68-08/4/v68_n4_p291_297.pdf
110. Myers D, et al. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of stray dogs in Moreno, Argentina. [Internet]. Cornell Vet 1980; 70: 258-65. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023450005.pdf>
111. Agudelo, et al. Seroprevalencia y factores de riesgo para brucelosis canina en perros domésticos de once comunas de la ciudad de Medellín Colombia. [Internet]. Rev. salud pública. 14 (4): 644-656, 2012. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v14n4/v14n4a09.pdf>
112. Boeri, et al. Brucelosis Canina En Perros De La Ciudad De Buenos Aires [Internet]. 2008; 68: 291-297. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262760789_Brucelosis_canina_en_perros_de_la_ciudad_de_Buenos_Aires
113. Colman, et al. Seroprevalencia De Brucelosis Canina (*Brucella canis*) En La Ciudad De Concepción – Paraguay [Internet]. ISSN 2226-1761 Compend. cienc. vet. 2017; 07 (01) : 41 – 45. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2226-17612017000100041
114. Giraldo, et al. *Brucella canis* en Medellín (Colombia), un problema actual. [Internet]. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 12 (1): 51-57, 2009. Disponible en: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/641>
115. Maza, et al. Seroprevalencia de Brucelosis Canina en el Distrito de Los Olivos, Lima, Perú. [Internet]. Rev Inv Vet Perú 2016; 27(2): 375-380. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i2.116>.
116. Ramírez, et al. Prevalencia De Brucelosis Canina En Dos Distritos De La Provincia Constitucional Del Callao. [Internet]. Rev Inv Vet Perú 2006; 17 (1): 39-43. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371838844007.pdf>
117. Zabala, et al. Seroprevalencia de Anticuerpos contra *Brucella canis* en Perros del Distrito de Pucusana, Lima, Perú. [Internet]. Rev Inv Vet Perú 2016; 27(2): 370-374. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11648>. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000200020

118. Prochazka, et al. Relevamiento serológico de brucelosis en caninos que acudieron a consulta en la ciudad de Bahía Blanca. [Internet]. Rev. med. vet. (B. Aires) 2017, 98(3): 05 – 08. Disponible en: http://www.someve.com.ar/images/revista/2017/N3-2017_Articulo-01.pdf
119. Bonicatto P. Diagnóstico de brucelosis canina en la población de perros que concurren al centro de castración municipal de Tolosa, Partido de la Plata, provincia de Buenos Aires. [Internet]. Septiembre 2018. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/73664>
120. Anyaoha, et al. Seroprevalence and Risk Factors of Brucellosis in Dogs in Enugu and Anambra States, Nigeria. [Internet]. Rev Med Vet. 2020;(40): 45-59. Disponible en: <https://doi.org/10.19052/mv.vol11.iss40>.
121. Sánchez J. Seroprevalencia de brucelosis canina en perros con dueño del Gran Santiago y factores de riesgo asociados a su presentación. Santiago, Chile [Internet]. 2017. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/151069/Seroprevalencia-de-brucelosis-canina-en-perros-con-due%C3%B1o-del-gran-Santiago-y-factores-de-riesgo-asociados-a-su-presentaci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
122. Cárdenas, et al. Seroprevalencia de *Brucella canis* en la población canina del centro de zoonosis de la ciudad de Villavicencio. [Internet]. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 18, núm. 11, noviembre, 2017, pp. 1-11. Málaga, España. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574018.pdf>
123. Troncoso I, et al. 2013. Brucelosis en criaderos caninos: seroprevalencia de 33 casos. [Internet]. Hosp. Vet. 5 (2): 50-55. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/151069/Seroprevalencia-de-brucelosis-canina-en-perros-con-due%C3%B1o-del-gran-Santiago-y-factores-de-riesgo-asociados-a-su-presentaci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
124. Obrist, W. 2005. Seroprevalencia de *Brucella canis* en una población canina perteneciente a la comuna de San Bernardo, [Internet]. Región Metropolitana. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Santo Tomás. Facultad de Medicina Veterinaria. 57p. disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023450005.pdf>
125. GÓMEZ, V. 2007. Seroprevalencia de brucelosis canina por *B. canis* en clínicas Veterinarias del Gran Santiago 2002-2003. [Internet]. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias

Veterinarias y Pecuarias. 44 p. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/133553/Seroprevalencia-de-brucelosis-canina-por-B.-canis-en-cl%C3%ADnicas-veterinarias-del-Gran-Santiago-2002-2003.pdf?sequence=1>

126. Hormazabal j, et al. Identificación taxonómica de aislamientos de *Brucella spp.* de casos humanos, aislados en hospitales chilenos 2009-2014. [Internet]. In: XXXI Congreso Chileno de Infectología, Puerto Varas, Chile. 12-15 noviembre 2014. Sociedad Chilena de Infectología. pp. 18. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143671/Sensibilidad-analitica-de-una-reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa-convencional-para-el-diagnostico-de-Brucella-canis-en-cultivo-puro-y-muestras-de-sangre-y-orina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
127. Munford RS, Weaver RE, Patton C, Feeley JC, Feldman RA. Human disease caused by *Brucella canis*. [Internet]. A clinical and epidemiologic study of two cases. JAMA. 1975; 24;23:1267-1269. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1172954/>
128. Lucero NE, Maldonado PI, Kaufman S, Escobar GI, Boeri E, Jacob NR. *Brucella canis* causing Infection in an HIV-Infected Patient. [Internet]. Vector Borne Zoonotic Dis. 2009; 10:527-529. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v14n4/v14n4a09.pdf>
129. Echeverry DM, Giraldo MI, Casta JC. Prevalence of intestinal helminths in cats in Quindío, Colombia. [Internet] Biomédica. 2012; 32(3):430-436. Disponible en: DOI: <http://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.439> PMID:23715191
130. González AC, Giraldo JC. Prevalencia de parásitos intestinales zoonóticos en caninos (*Canis Lupus Familiaris*) del área urbana del municipio de Coyaima (Tolima). [Internet] Revista Med. 2015;23(2):24-34. Disponible en: DOI: <http://doi.org/10.18359/rmed.1743>
131. Acha P, Szyfres B. Zoonosis: y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. [Internet] 2a ed. Washington: OPS; 1986. 943 p. (Serie N° 503). Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/acha-zoonosis-spa.pdf>
132. Tuemmers C, Lüders C, Rojas C, Serri M, Castillo C, Espinoza R. Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. [Internet] Rev Chil Infectol. 2013 ;30(4):395 401. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182013000400007

133. Rousseau P. 1985. *Brucella canis* infection in a woman with fever of unknown origin. [Internet]. Postgrad Med 78: 249-257. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4048034/>
134. Schoenemann J, Lutticken R, Scheibner E. 1986. *Brucella canis* infection in man. [Internet]. Dtsch Med Wochenschr 111(1): 20-22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3940831/>
135. Rhoades HE, Mesfin GM. 1980. *Brucella canis* infection in a kennel. [Internet]. Vet Med Small Anim Clin 75: 595-599. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172016000200021
136. López Goni I, García Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ, Barquero Calvo E, Guzmán Verri C, Albert D, Garin Bastuji B. New Bruce ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. [Internet]. Vet Microbiol. 2011;154:152-5. Disponible en: <https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/18306>
137. Carmichael LE, Joubert JC. 1988. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. [Internet]. Cornell Vet 78: 63-73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3335131/>
138. Fox K. F.; Fox, A.; Nagpal, M.; Steinberg, P.; Heroux, K. 1998. Identification of *Brucella* by Ribosomal-Spacer-Region PCR and Differentiation of *Brucella canis* from Other *Brucella spp.* [Internet]. Pathogenic for Humans by Carbohydrate Profiles. Journal of Clinical Microbiology, 36: 3217-3222. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC105304/>
139. Dees S. B.; Hollis, D. G.; Weaver, R. E.; Moss, C. W. 1981. Cellular fatty acids of *Brucella canis* and *Brucella suis*. [Internet]. Journal of Clinical Microbiology, 14: 111-112. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC271911/>
140. Serikawa T.; Muraguchi, T.; Yamada, J.; Takada, H. 1981. Long-term observation of canine brucellosis: excretion of *Brucella canis* into urine of infected male dogs. [Internet]. Jikken Dobutsu. Experimental Animals, 30: 7-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7262203/>

141. Corbel M. J.; Thomas, E. L. 1985. Use of phage for the identification of *Brucella canis* and *Brucella ovis* cultures. [Internet]. Research in Veterinary Sciences, 38: 35-40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3975479/>
142. George L.; Carmichael, L. 1984. Antisperm responses in male dogs with chronic *Brucella canis* infections. [Internet]. American Journal of Veterinary Research, 45: 274-281. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6231870/>
143. Miranda A. O.; Báez, E. N. 2005. Serodiagnóstico en Brucelosis Canina: Análisis comparativo entre las técnicas de aglutinación rápida en placa e inmunodifusión en gel de agar. [Internet]. XXVI Sesión de Comunicaciones Científicas 2005 85º Aniversario. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste. p. 67. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/63622/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
144. . Rojas Albuja, D. A. (2015). Estudio preliminar sobre el manejo reproductivo y la presencia de *Brucella canis* en dos centros de crianza de caninos de la raza Mastín Napolitano de las ciudades de Quito y Lasso. [Internet]. Universidad de las Américas, Quito. Disponible en: <https://www.bibliotecasdelecuador.com/Record/ir-:33000-4639/Details>
145. BIOTECHGR. Canino brucella AB. [Internet]. Disponible en: https://www.qbiotech.gr/pet-rapid-test/canine-rapid-test/bionote-canine/canine-brucella-ab.html?store=en&from_store=el
146. Blanco L. Desarrollo de un Inmunoensayo de Flujo Lateral para la detección de PSA, [Internet]. Departamento de Química Física y Analítica, Oviedo, 2013. Disponible en: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19167/TFM%20Blanco%20Covian.pdf;jsessionid=D883460531D595221CA818AC6C5E2D62?sequence=3>
147. D. Mabey, R.W. Peeling, A. Ustianowski, M.D. Diagnóstico para el mundo en Desarrollo. [Internet]. 2004. Nature Reviews Microbiology 2 231-240. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro84>
<https://www.nature.com/articles/nrmicro841?foxtrotcallback=true#citeas>
148. Soloaga R.; Salinas, A.; Poterallo, M.; Margari, A.; Suar, B.; Lucero, N.; Almuzaea M. 2004. Bacteriemia por *Brucella canis*: Aislamiento con el Sistema Bact-Alert. [Internet]. Revista Argentina de Microbiología, 36: 81-84. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/262461286 Bacteriemia por Brucella canis Aislamiento con el Sistema Bact-Alert](https://www.researchgate.net/publication/262461286_Bacteriemia_por_Brucella_canis_Aislamiento_con_el_Sistema_Bact-Alert)

149. Holst BS, Löfqvist K, Ernholm L, Eld K, Cedersmyg M, Hallgren G. The first case of *Brucella canis* in Sweden: background, case report and recommendations from a northern European perspective. [Internet]. Acta Vet Scand 2012; 54:18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3349463/>
150. Feldman E. (2000). Libro de texto de medicina interna veterinaria: enfermedades del perro y el gato (Quinta ed.). [Internet]. Colorado, Estados Unidos: Saunders Company. Disponible en: https://books.google.com.co/books/about/Tratado_de_medicina_interna_veterinaria.html?id=sgv9GAAACAAJ
151. Stanchi N. (2010). Microbiología Veterinaria (Segunda ed.). [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Inter Médica. Disponible en: https://www.academia.edu/41218494/Microbiolog%C3%ADa_Veterinaria_XXI_2010_Buenos_Aires_Rep%C3%ABlica_Argentina
152. Ramos A. (2006). Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. [Internet]. Zaragoza: Acribia. Disponible en: https://www.editorialacribia.com/libro/enfermedades-infecciosas-de-los-animales-domesticos-tomo-2-enfermedades-bacterianas-fungicas-e-intoxicaciones_53795/
153. Madigan M., Martinco, J., & Clark, D. (2016). Biología de los microorganismos. [Internet]. Edimburgo: Pearson. Disponible en: https://www.academia.edu/39077515/Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_BROCK
154. Kim JW, Lee YJ, Han MY, Bae DH, Jung SC, Oh JS et al Evaluation of Immunochromatographic Assay for Serodiagnosis of *Brucella canis*. [Internet]. J Vet Med Sci. 2007; 69:1103–1107. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18057823/>
155. Gomez N., & Guida, N. (2010). Enfermedades Infecciosas de los Caninos y Felinos. [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Inter – Médica. Disponible en: http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/g/o/gomez.pdf
156. Cardeñosa Marin N. Estudios seroepidemiológicos. [Internet]. Rev Esp en Salud Pública 2009; 83 (5): 607-610. Disponible en:

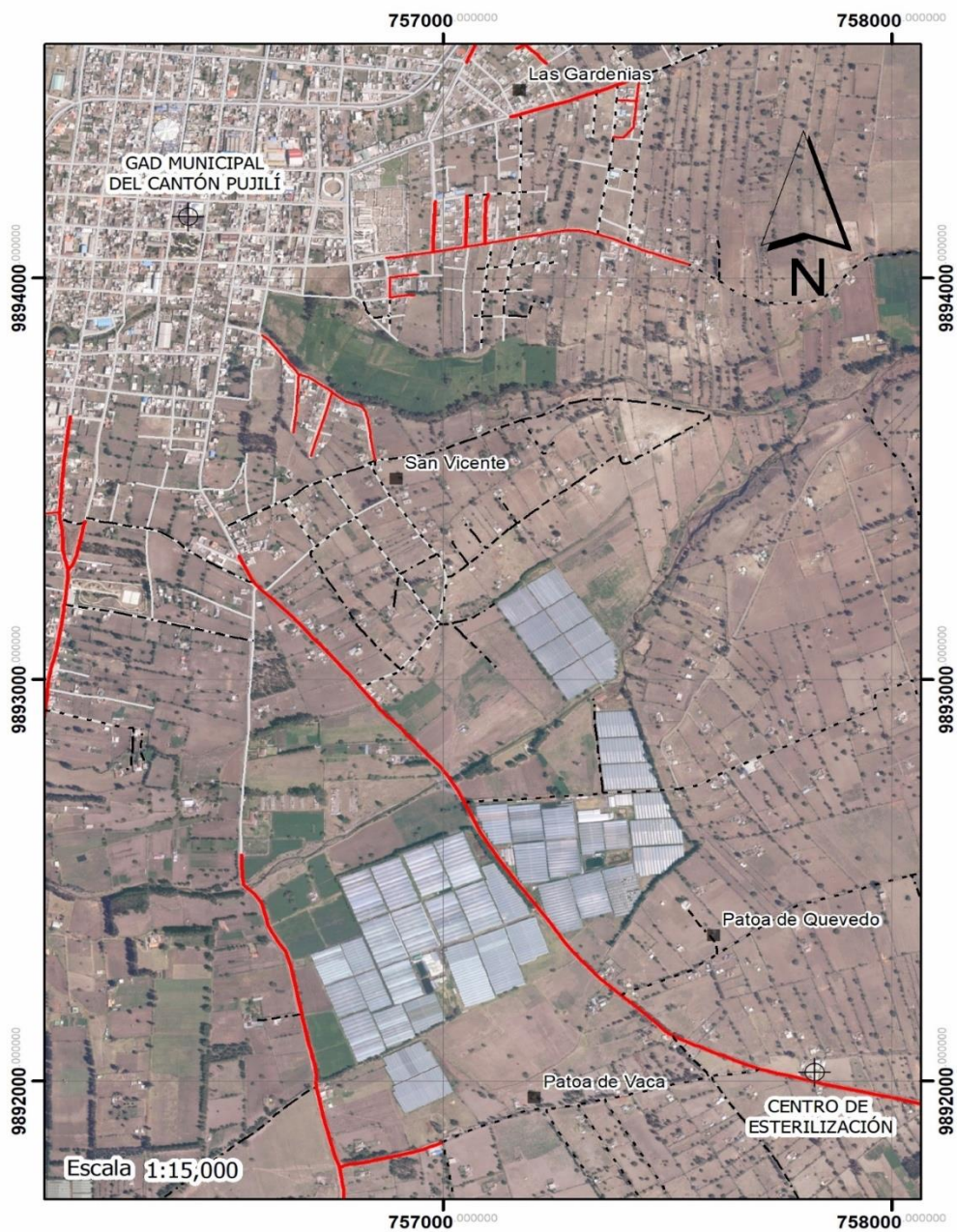
http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-57272009000500002&script=sci_abstract

157. Castro V. Determinación de brucelosis en caninos y porcinos en el barrio Colonia Nueva Esperanza de la ciudad de Neuquén durante el período 2016-2017 [Internet]. Noviembre, 2018. Pag, 30-34. Argentina 2018. Disponible en: <http://rdi.uncoma.edu.ar:8080/handle/123456789/6832>
158. 177. Muñoz A, et al. Enfermedades zoonóticas de importancia en salud pública en caninos en diferentes regiones de la república Argentina. [Internet]. Anuario de investigación USAL - Nro 6. Pag, 207-208. 2019. Disponible en: <https://p3.usal.edu.ar/index.php/anuarioinvestigacion/article/view/4924>
159. Laverde A, et al. Seroprevalencia de *Brucella canis* en caninos de un refugio para animales de compañía en Bogotá, Colombia [Internet]. Vol. 41 Núm. 2. 2021. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/issue/view/178> DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.5409>
160. Tobar D. Prevalencia de *Brucella canis* y Factores Asociados en Caninos Domésticos (canis familiaris) en la Comunidad San Agustín de Callo [Internet]. UTC. Latacunga. 135 p. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6179>
161. Castrillón L, et al. Prevalencia de presentación de algunos agentes zoonóticos transmitidos por caninos y felinos en Medellín, Colombia. [Internet]. Revista MVZ Córdoba Volumen 24(1) Enero-abril 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7049475> <https://doi.org/10.21897/rmvz.1524>
162. Parada Puig, Raquel. Inmunofluorescencia: fundamento, protocolo y aplicaciones. [Internet]. Lifeder. 2019. Disponible en: <https://www.lifeder.com/inmunofluorescencia/>
163. Courbil A. Manteau C. Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea. [Internet]. Volumen 46, May 2020, Pages 1-10. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1280470320436461>

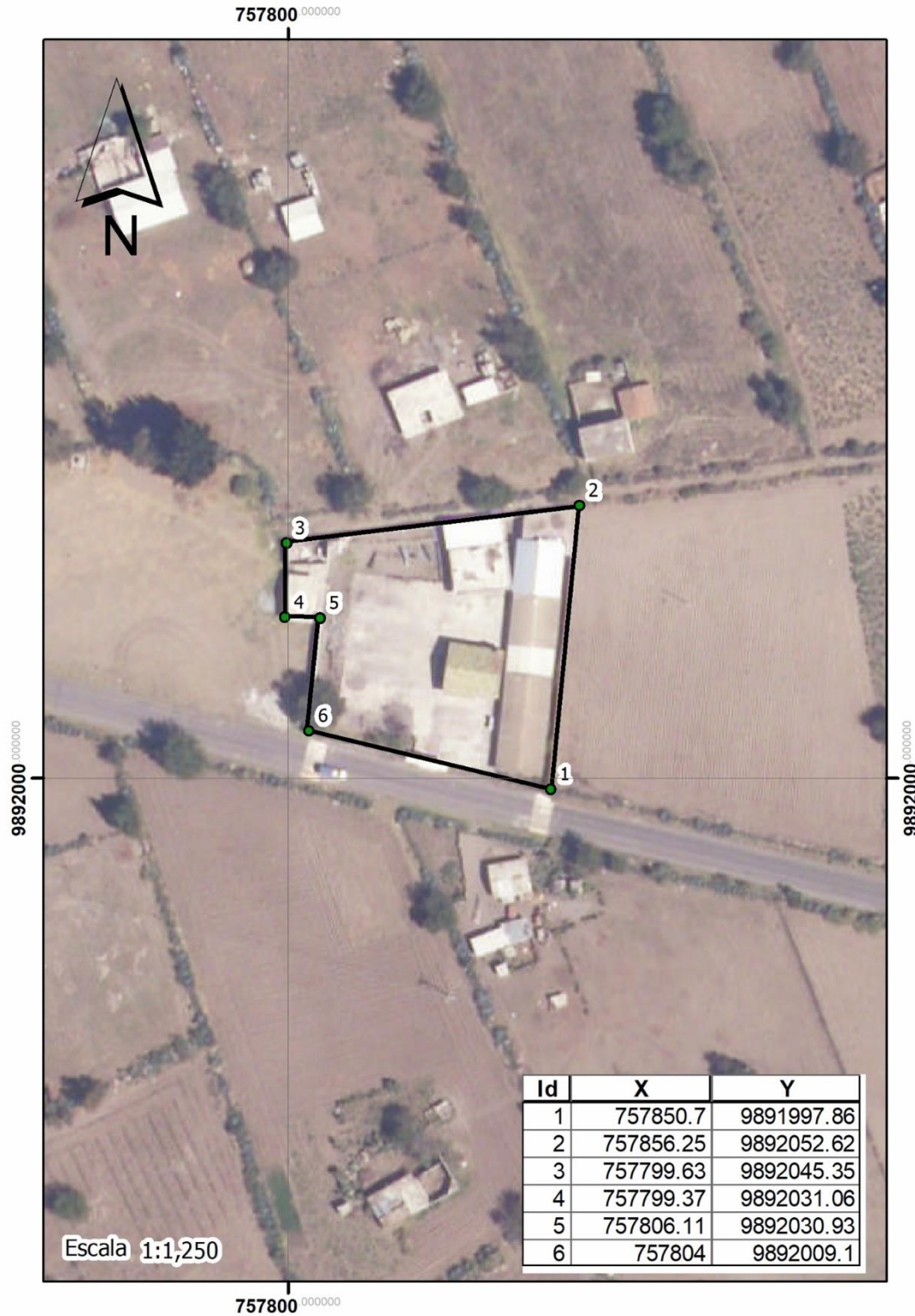
164. Hoff F. Cómo preparar su muestra para microscopía de inmunofluorescencia. [Internet]. Philipps University Marburg, Instituto de Citobiología y Citopatología, Alemania. 2012. Disponible en: <https://www.leica-microsystems.com/science-lab/how-to-prepare-your-specimen-for-immunofluorescence-microscopy/>
165. Miller, D. M., & Shakest, D. C. (1995). Immunofluorescence Microscopy. In *Methods in Cell Biology* (Vol. 48, pp. 365–394). Academic Press, Inc. [Internet]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091679X08613965>
166. Odell, I. D., & Cook, D. (2013). Immunofluorescence Techniques. *Journal of Investigative Dermatology*, 133, 1–4. [Internet]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23299451/>
167. Schaeffer, M., Orsi, E. V., & Widelock, D. (1964). Applications of immunofluorescence in Public Health Virology. [Internet]. *Bacteriological Reviews*, 28(4), 402–408. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14244717/>
168. Abcam, Immunocytochemistry and immunofluorescence protocol. [Internet]. Retrieved from [abcam.com](https://www.abcam.com/protocols/immunocytochemistry-immunofluorescence-protocol). Disponible en: <https://www.abcam.com/protocols/immunocytochemistry-immunofluorescence-protocol>

CAPÍTULO VII. ANEXOS


Anexo 1. Ubicación del Centro de Esterilización Canina y Felina del GADMICP.




Anexo 2. Coordenadas geográficas del Centro de Esterilización Canina y Felina del GADMICP



Anexo 3. Historia Clínica aplicada en el Centro de Esterilización Canina y Felina del GADMICP.



Gobierno Autónomo
Descentralizado
Municipal
del Cantón Pujilí



HISTORIA CLÍNICA #.....

<p>DATOS DE LA MASCOTA:</p> <p>Código:</p> <p>Nombre:</p> <p>Especie:</p> <p>Raza:</p> <p>Sexo:</p> <p>Edad:</p> <p>Peso:</p>	<p>DATOS DEL PROPIETARIO:</p> <p>Nombre:</p> <p>C.I:</p> <p>Dirección:</p> <p>Teléfono Celular:</p>
--	--

EXPLORACIÓN FÍSICA GENERAL:

Actitud:
 En la estación.....
 En movimiento.....
 En decúbito.....
 Estado Mental: Normal..... Comatoso....., Estuporoso....., Confuso....., Deprimido....., Hiperexcitable.....

Temperamento: Equilibrado....., Linfático....., Nervioso.....

Agresividad: Si..... No.....
 Condición Corporal: Caquéctico....., Delgado....., Normal....., Sobrepeso....., Obeso.....

EXAMEN RESPIRATORIO:

Frecuencia respiratoria..... Estornudo.....
 Descarga nasal: Bilateral....., Unilateral....., Serosa....., Purulenta....., Hemorrágica.....
 Hemoptisis.....
 Tos: Seca....., Productiva....., Húmeda.....
 Disnea

MOVIMIENTOS RESPIRATORIOS:

Profundidad: Profunda....., Superficial....., Regular.....
 Tipo: Costoabdominal....., Costal....., Abdominal....., Pendular.....
 Duración: Rítmica (Si.....) (No.....)
 Frecuencia:

PULSO Y FRECUENCIA CARDÍACA:

Bilateral....., Regular....., Rítmico....., Sincrónico....., Simétrico....., Fuerza.....
 Frecuencia cardíaca.....

TEMPERATURA:

Estado de la mucosa anal y perianal

Heces.....

MUCOSAS: Color....., Humedad....., Brillo....., Relleno capilar.....

GRADO DE HIDRATACIÓN:

Pliegue cutáneo....., Globos oculares....., Córnea....., Mucosa labial.....

GANGLIOS LINFÁTICOS:

.....

ABDOMEN:

.....

TRATAMIENTOS PREVIOS:

.....

OBSERVACIONES:



.....

.....

.....

FIRMA VETERINARIO RESPONSABLE

Anexo 4. Ficha de esterilización.

 <p>Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Pujilí</p>	
--	---

FICHA DE ESTERILIZACIÓN

DATOS DE LA MASCOTA: Código: Nombre: Especie: Raza: Sexo: Edad: Peso: Prueba <i>Brucella canis</i> :	DATOS DEL PROPIETARIO: Nombre: C.I.: Dirección: Teléfono: Celular:	FECHA:
---	--	---------------

AUTORIZACIÓN PARA CIRUGÍA Firma propietario o responsable del animal

Los servicios veterinarios que ofrece el centro de esterilización canina y felina del GADMIC de Pujilí, utiliza personal capacitado, materiales y fármacos aprobados para todos los procedimientos ejecutados; es importante aclarar que el riesgo de lesión o muerte, siendo bajo, siempre está presente al igual que cualquier intervención quirúrgica en seres humanos.

Como propietario o responsable de la mascota anteriormente descrita, **AUTORIZO** al GADMIC de Pujilí a través del Centro de Esterilización Canina y Felina a efectuar la cirugía de esterilización, entendiéndolo y certificando lo siguiente:

- Que la intervención a realizarse será la **LIGADURA DE CUERNOS UTERINOS** en hembras y **ORQUITECTOMÍA**, en machos.
- Que la cirugía presenta ciertos riesgos que podrían resultar en lesiones o incluso la muerte de mi mascota (5% de riesgo de muerte, estadística mundial).
- Que mi mascota se encuentra en buen estado de salud y con los tratamientos preventivos contra enfermedades.
- Que el Centro de Esterilización Canina y Felina no efectuará análisis de laboratorio previo a la cirugía para descartar enfermedades latentes de mi mascota o alergias a los medicamentos utilizados (Excepto brucelosis canina).
- Que algunos factores como celo, preñez, lactancia, obesidad, animales monórquidos y algunas enfermedades incrementan los riesgos durante la cirugía por lo que **no se realizará la intervención** si el animal se encuentra cursando estos estados.
- Que de ocultar información relevante sobre el estado de salud de mi mascota asumo directamente la responsabilidad en el caso de que esta acción repercuta en el desarrollo de la intervención quirúrgica.
- Que en caso de no cumplir con las indicaciones post operatorias emitidas por el personal técnico del Centro de Esterilización deslindo de toda responsabilidad al GADMIC de Pujilí por complicaciones posteriores al procedimiento quirúrgico y de presentarse estos inconvenientes por mi descuido acudiré a un centro veterinario particular para remediar este hecho.

Mediante este documento me comprometo a:

- Realizar el tratamiento post operatorio recomendado por los médicos del Centro de Esterilización Canina y Felina del GADMIC de Pujilí.
- Impedir que mi mascota luego de haber sido beneficiaria de los servicios que presta el Centro de Esterilización Canina y Felina de forma gratuita deambule libremente por espacios públicos.
- Atenerme a las multas y sanciones pertinentes en el caso de incumplir las disposiciones emitidas por el GADMIC del cantón Pujilí, en las cuales estoy de acuerdo.

ANEXO: PRUEBA BRUCELOSIS CANINA:

En el caso que mi mascota resulte positiva a la prueba de sangre realizada para detección de **BRUCELOSIS** y en conocimiento que es una enfermedad de carácter zoonótico, de declaración oficial y que el animal será vector de la misma por un período prolongado, como me explicaron claramente los técnicos del Centro de Esterilización Canina y Felina; yo como propietario o responsable del animal:

AUTORIZO..... A los técnicos del Centro de Esterilización realizar el procedimiento de eutanasia y reportar el caso a las entidades pertinentes para que se realice el protocolo sanitario respectivo.

NO AUTORIZO..... A los técnicos del Centro de Esterilización realizar el procedimiento de eutanasia, acción que tomo bajo mi responsabilidad directa como propietario de mi mascota, a la vez deslindo toda responsabilidad al GADMIC de existir alguna consecuencia que repercuta con la salud de mi familia y otras mascotas bajo mi custodia.

NOTA: En el caso de que la prueba resultare **POSITIVA** y de **NO AUTORIZAR LA EUTANASIA**, por protocolo sanitario **NO SE REALIZARÁ LA CIRUGÍA DE ESTERILIZACIÓN A LA MASCOTA EN CUESTIÓN**; y se reportará el caso a las entidades de control pertinentes.

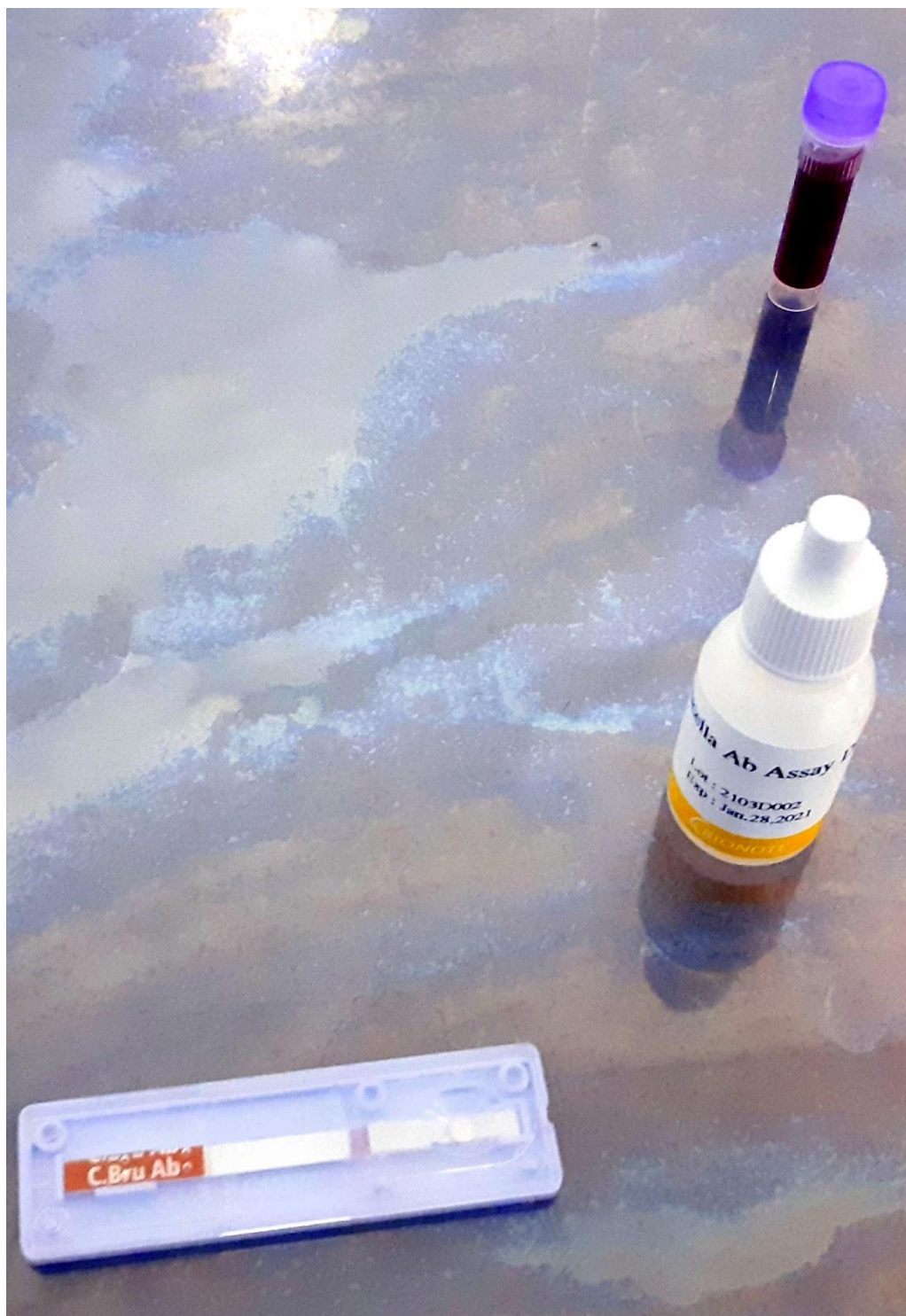
Anexo 5. Rasurado y desinfección del área de extracción de la muestra sanguínea.



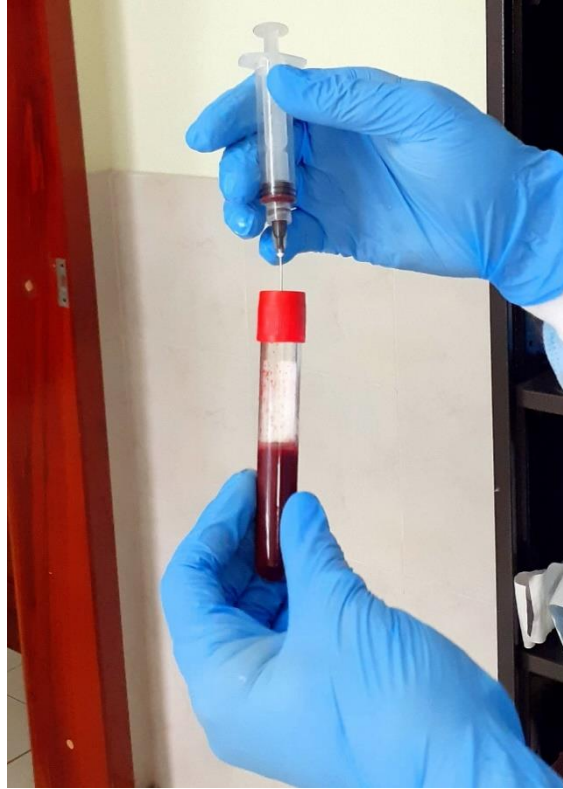
Anexo 6. Extracción de la muestra de sangre.



Anexo 7. Prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA. Sangre entera con anticoagulante EDTA, buffer de dilución y cassette.



Anexo 8. Prueba de inmunofluorescencia indirecta IFI. Extracción de suero sanguíneo.



Anexo 9. Prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA. Identificación de las muestras. Resultado NEGATIVO.



Anexo 10. Prueba de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA. Identificación de las muestras. Resultado POSITIVO.



Anexo 11. Resultados de las pruebas de inmunocromatografía de flujo lateral LFIA

N°	Código	Categoría	Sexo	Edad	Partos/ montas	Raza	Prueba brucelosis	Propietario	C.I.	Dirección	Teléfono	Fecha	Observaciones
1	425	propietario	M	3 años	Si	mestizo	negativo	Luz Ortiz	0500093802	Álvarez y Yangues	098559472	01-10-19	
2	427	propietario	H	1 año	No	caniche	negativo	Luis Vargas	0501872915	Brr. Alpamalag de Vascones	098559472	01-10-19	
3	428	propietario	H	1 año	Si	Mestizo	negativo	Luis Vargas	0501872915	Brr. Alpamalag de Vascones	098559472	01-10-19	
4	429	propietario	H	Año y medio	Si	Mestizo	negativo	Mariana Tipan	0501780795	Av. Velasco Ibarra	0995799491	02-10-19	
5	430	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Mariana Tipan	0501780795	Av. Velasco Ibarra	0995799491	02-10-19	
6	433	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Maribel Murquincho	0550194328	Brr. Chimbacalle	0983027558	16-10-19	

7	434	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Maribel Murquincho	0550194328	Brr. Chimbacalle	0983027558	16-10-19	
8	436	propietario	H	3 años	Si	Schnauzer	negativo	Marco Caicedo	0502484181	La Victoria	0958796117	18-19-19	
9	437	propietario	H	2 años y medio	Si	Pequinés	positivo	Oswaldo Gomez	0500758248	Brr. San Juan	S/N	18-10-19	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
10	438	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	María Chuquitarco	0501147839	Brr. La Merced	0983247546	22-10-19	
11	442	propietario	H	9 años	Si	Mastín napolitano	positivo	Cisne Figueroa	0501966501	La Victoria	0995370769	25-10-19	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
12	443	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Umbelina Ruiz	1707305105	Brr. Centro	0992843155	05-11-19	
13	446	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Luis Vásquez	151928147	Brr. La Floresta	0998992111	08-11-19	
14	447	propietario	H	7 años	Si	Mestizo	negativo	Jessica Yanez	0503633521	Brr. Isinche	0963009928	12-11-19	
15	452	propietario	M	4 años	Si	Mestizo	negativo	Cristobal Paez	0501257042	Brr. 4 Esquinas	0985057269	13-11-19	

16	453	propietario	M	2 años	Si	Mestizo	negativo	María Caisaguano	0500558051	Brr. Buena esperanza	S/N	14-11-19	
17	455	propietario	M	4 años	Si	Mestizo	negativo	María Caisaguano	0500558051	Brr. Buena Esperanza	S/N	14-11-19	
18	456	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Merith Tigmasa	0503260039	La Victoria	0984653002	15-11-19	
19	459	propietario	H	5 años	Si	Mestizo	negativo	Manuel Guilcaso	0500856539	Brr. Patoa	0998064508	19-11-19	
20	461	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Alba Jácome	0504307711	Brr. San Francisco	0987370208	21-11-19	
21	462	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Alba Jácome	0504307711	Brr. San Francisco	0987370208	21-11-19	
22	463	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Margarita Mejía	0502501695	Brr. Guapulo	0984576918	22-11-19	
23	468	propietario	H	2 años	No	mestizo	negativo	Alvaro Pullotasig	0504266362	Brr. Cashapamba	0992910905	26-11-19	
24	469	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Rosa Yañez	0500985882	Brr. Isinche	-	26-11-19	
25	470	propietario	M	4 años	Si	Mestizo	negativo	Merith Tigmasa	0503260039	La Victoria	0984653002	26-11-19	

26	471	propietario	H	8 años	Si	Schnauzer	negativo	Edwin Jurado	0501874556	Brr. Rosita Paredes	0983778147	27-11-19	
27	472	propietario	H	6 años	Si	Mestizo	negativo	Consuelo Tigmasa	0503141380	La Victoria	0999031217	27-11-19	
28	473	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Consuelo Tigmasa	0503141380	La Victoria	0999031217	27-11-19	
29	474	propietario	H	Año y medio	Si	Husky	negativo	Rosario Chugchilán	0502386980	Brr. Rosita Paredes	0998798704	28-11-19	
30	475	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Nelly Salazar	0502301534	Brr. Perpetuo Socorro	0983944580	28-11-19	
31	476	propietario	H	Año y medio	Si	Mestizo	negativo	Nelly Salazar	0502301534	Brr. Perpetuo Socorro	0983944580	28-11-19	
32	478	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Myriam Ronquillo	0502942162	Brr. Patoa	0992697118	29-11-19	
33	479	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Jorge Caisaluisa	0502338643	Brr. Santa Rosa	0998588353	29-11-19	
34	480	propietario	H	1 año	No	Mestizo	negativo	Carmen Naranjo	0500939582	Brr. Patoa	0997720675	02-12-19	
35	485	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Wilma Iza	0503176919	Velasco Ibarra	0995082014	04-12-19	

36	486	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Pedro Achote	0502616204	Brr. La Merced	099983780	04-12-19	
37	487	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Pedro Achote	0502616204	Brr. La Merced	099983780	04-12-19	
38	489	propietario	H	1 año	No	Mestizo	negativo	Maria Maigua	0500919923	Cdla. Vicente León	0983732915	06-12-19	
39	490	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Maria Maigua	0500919923	Cdla. Vicente León	0983732915	06-12-19	
40	491	propietario	H	2 años	No	Mestizo	negativo	Maria Maigua	0500919923	Cdla. Vicente León	0983732915	06-12-19	
41	495	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Jaime Copara	0502351174	Brr. La Merced	0999318787	11-12-19	
42	496	propietario	H	2 años y medio	Si	Mestizo	negativo	Maria Guanotasig	0501612352	Brr. Isinche	0991556790	11-12-19	
43	497	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Maria Guanotasig	0501612352	Brr. Isinche	0991556790	11-12-19	
44	498	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Carlos Jácome	0502097090	Cdla. Veintimilla	0984645989	12-12-19	

45	499	propietario	M	3 años	Si	Mestizo	negativo	Carlos Jácome	0502097090	Cdla. Veintimilla	0984645989	12-12-19	
46	501	propietario	H	3 años	Si	Doberman pincher	negativo	Roxana Ortega	0503353856	Cdla. Veintimilla	0995440408	12-12-19	
47	502	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Ines Azogues	0503547754	Brr. Rosita Paredes	0991787925	16-12-19	
48	514	propietario	H	8 años	Si	Pastor alemán	negativo	Sergio Arboleda	1705662714	La Victoria	0999186934	23-12-20	
49	515	propietario	H	2 años y medio	Si	Mestizo	negativo	Maria Quishpe	0501307268	Brr. Guapulo	0983536399	24-12-20	
50	518	propietario	M	3 años	si	Labrador	negativo	Edith León	0501946990	Brr. 3 de mayo	0992521422	30-01-20	
51	524	propietario	H	2 años y medio	si	Caniche	negativo	Gabriela Segovia	0503040617	Cdla. El Chofer	0995588652	05-02-20	
52	528	propietario	M	2 años	si	Mestizo	negativo	Elvia Tasipanta	0502492424	Brr. El Portal	0983536994	05-02-20	
53	530	propietario	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Josselyn Vega	0503332181	Brr. San Isidro	0993510460	06-02-20	

54	535	propietario	H	1 año	No	Mestizo	negativo	María Medranda	1310516511	Cdla. Veintimilla	0980545323	11-02-20	
55	536	propietario	H	2 años	si	Mestizo	negativo	María Medranda	1310516511	Cdla. Veintimilla	0980545323	11-02-20	
56	537	propietario	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Martha Guano	0501792303	Brr. Isinche Grande	0998398929	11-02-20	
57	540	propietario	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Néstor Chávez	0502508021	Cdla. California 2	0998302204	12-02-20	
58	541	propietario	M	3 años	si	Mestizo	negativo	Néstor Chávez	0502508021	Cdla. California 2	0998302204	12-02-20	
59	542	Propietario	M	5 años	Si	Rottweiler	Positivo	Néstor Chávez	0502508021	Cdla. California 2	0998302204	12-02-20	Eutanasia y reporte Distrito de Salud Pujilí - Saquisilí
60	543	propietario	H	1 año	si	Mestizo	negativa	Yolanda Soria	0502405525	Brr. Patoa de Quevedos	0991743001	13-02-20	
61	544	propietario	H	5 años	si	Mestizo	negativa	Yolanda Soria	0502405525	Brr. Patoa de Quevedos	0991743001	13-02-20	
62	548	propietario	H	Año y medio	si	Mestizo	negativa	Maribel Segovia	0502784226	Brr. 3 de mayo	0984551824	14-02-20	

63	550	propietario	H	4 años y medio	si	Mestizo	negativa	Mariana Guanotasig	0503061160	Brr. San Marcos	0961705686	18-02-20	
64	553	propietario	H	Año seis meses	No	Mestizo	negativa	Manuel Ochoa	0500124649	Brr. Patoa	0987662935	20-02-20	
65	555	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Bolivar Guilcaso	0502183759	Brr. Rumipamba	0995677206	20-02-20	
66	556	propietario	H	Año y medio años	Si	Mestizo	negativo	María guano	1703534857	Brr. San Juan	032723074	21-02-20	
67	557	propietario	H	Año y medio	Si	Mestizo	negativo	Fausto Yanes	0501147292	Brr. Inchapo	0994743709	21-02-20	
68	558	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Jhonatan Topa	0502886112	Brr. Rosita Paredes	0969866920	21-02-20	
69	565	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Tatiana Molina	0503168189	La Victoria	0983727240	28-02-20	
70	567	propietario	H	3 años	Si	Golden retriever	negativo	Luis Balladares	0504159724	Brr. Danzapamba	0987756761	03-03-20	
71	568	propietario	M	8 años	Si	Caniche	negativo	Soraya Cevallos	0502929672	Brr. Buena Esperanza	0983765946	03-03-20	

72	569	propietario	H	3 años	Si	Caniche	negativo	Pamela Espín	0503775538	Brr. Vicente León	0987993135	03-03-20	
73	571	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	Gloria Peñafiel	0919706119	Brr. La Merced	0982546218	04-03-20	
74	572	propietario	H	Año y medio	Si	Mestizo	negativo	Rosa Maigua	0501443402	Brr. San Marcos	0995475237	04-03-20	
75	573	propietario	H	1 año	Si	Mestizo	negativo	Blanca Tigse	0501264782	Brr. 3 de Mayo	0983444758	04-03-20	
76	575	propietario	H	2 años	Si	Golden retriever	negativo	Josefina Chusin	0501854202	Brr. El Portal	0979001891	05-03-20	
77	577	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Hugo Basstante	0500031679	Pujilí centro	0992938840	06-03-20	
78	581	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Narcisa Guilcaso	0502004245	Brr. Rosita Paredes	0998101543	09-03-20	
79	582	propietario	H	1 año	No	Mestizo	negativo	William Iza	0502355019	Cdla. Veintimilla	0967127538	09-03-20	
80	583	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	negativo	William Iza	0502355019	Cdla. Veintimilla	0967127538	09-03-20	
81	587	propietario	H	10 años	Si	Mestizo	negativo	Jessica Yañez	0502633521	Brr. Isinche	0963009928	13-03-20	

82	588	propietario	H	2 años y medio	Si	Mestizo	negativo	Maria Vega	0502566938	Brr. Las Gardenias	0967320829	13-03-20	
83	589	propietario	H	1 año	No	Mestizo	negativo	José Toaquiza	0502811920	Cdla. Veintimilla	0999885473	13-03-20	
84	590	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	negativo	Fausto Acurio	0500745781	Brr. Chimbacalle	0978878001	16-03-20	
85	591	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	negativo	Marianela Hinojosa	1723822779	Pujilí Centro	0962931569	16-03-20	
86	595	propietario	M	4 años	Si	Husky	Negativo	Rolando Caiza	0202524960	Brr. Sichahuasin	0984060515	24-06-20	
87	597	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Belén Oñate	0501254486	Brr. Buena esperanza	0984078154	24-06-20	
88	600	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Hernán Martínez	0502907730	Brr. Collas Bajo	0994001477	26-06-20	
89	601	propietario	H	4 años	No	Mestizo	Negativo	Hernán Martínez	0502907730	Brr. Collas Bajo	0994001477	26-06-20	
90	602	propietario	M	6 años	Si	Caniche	Negativo	Diana García	0605003847	Brr. 4 Esquinas	0987306938	30-06-20	
91	607	propietario	H	10 años	Si	Mestizo	Negativo	Fanny Tigse	0503181034	Brr. Centro	0998629718	02-07-20	Aborto

92	609	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Martha Pallo	0502537574	Brr. Veintimilla	0987986060	03-07-20	
93	610	propietario	M	2 años	Si	Dachshund	Negativo	Jorge Suntasig	0503262883	Brr. Shuyopamba	0987437674	06-07-20	
94	611	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Jorge Suntasig	0503262883	Brr. Shuyopamba	0987437674	06-07-20	
95	612	Propietario	M	3 años	Si	Pitbull	Negativo	Ana Vizquete	0501711360	Brr. La Merced	0992698476	07-067-20	
96	613	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Ana Vizquete	0501711360	Brr. La Merced	0992698476	07-067-20	
97	616	propietario	H	4 años	Si	Caniche	Negativo	María Guanoluisa	0501085492	Brr. El Mirador	0962782632	08-07-20	
98	617	Propietario	H	3 años	Si	Mestiza	Negativo	Liliana Lema	0503248486	Brr. Rosita Paredes	0995066761	09-07-20	Abortos
99	619	Propietario	H	6 años	Si	Mestizo	Negativo	Angélica Lema	0502657190	Brr. Rosita Paredes	0995066761	10-07-20	
100	620	Propietario	H	1 año	No	Mestizo	Negativo	Angélica Lema	0502657190	Brr. Rosita Paredes	0995066761	10-07-20	
101	621	Propietario	H	1 año	No	Rottweiler	Negativo	Valeria Otañez	0550205579	Brr. Bellavista	0987095401	11-07-20	

102	622	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Positivo	Silvia Vega	0503646069	Brr. 3 de Mayo	0999076871	15-07-20	Abortos. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
103	623	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Silvia Vega	0503646069	Brr. 3 de Mayo	0999076871	15-07-20	Crías nacen muertas
104	624	Propietario	H	1 año	Si	Mestizo	Negativo	Silvia Vega	0503646069	Brr. 3 de Mayo	0999076871	15-07-20	Abortos
105	625	Propietario	H	4 años	Si	Beagle	Negativo	Ramiro Camalli	0501684641	Brr. El Cardón	0967665268	16-07-20	
106	626	Propietario	H	Año seis meses	Si	Mestizo	Negativo	Ramiro Camalli	0501684641	Brr. El Cardón	0967665268	16-07-20	
107	627	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Sophia Salazar	0502644354	Cdla. El Chofer	0995123417	17-07-20	
108	628	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Edwin Camalli	0501950828	Brr. El Cardón	0987780368	20-07-20	
109	629	Propietario	H	6 años	Si	Mestizo	Negativo	Luciano Segovia	0501048417	Cdla. El Chofer	0983872272	20-07-20	
110	631	Propietario	H	5 años	Si	Mestizo	Negativo	Thalia Ilaquiche	1753081007	Brr. Cashapamba	0984986814	21-07-20	

111	632	Propietario	H	5 años	Si	Mestizo	Negativo	Cecilia Tonato	0503250938	Brr. Centro	0995126914	23-07-20	
112	633	Propietario	H	4 años	Si	Pequinés	Negativo	Marco Jácome	0501359350	Brr. El Portal	099389337	24-07-20	
113	635	Propietario	M	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Wilfrido Ronquillo	0504748088	Brr. Rumipamba	s/n	27-07-20	
114	638	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Liliana Chispón	0703897884	Brr. La dolorosa	0991049149	29-07-20	
115	639	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Jorge Herrera	0502888168	Brr. Centro	0984984572	29-07-20	
116	640	Propietario	H	5 años	Si	Caniche	Negativo	Amparo Toaquiza	0502723091	Brr. Patoa de Quevedos	0979259256	30-07-20	
117	643	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	María Guamán	0501394340	Brr. La Merced	0998752165	04-08-20	
118	644	Propietario	H	2 años	No	Mestizo	Negativo	Germania Lloacana	0503580763	Cdla. El portal	0995144170	05-08-20	
119	646	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	José Pallo	0501770341	Brr. Apagua	0969681197	06-08-20	
120	648	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Michelle Tarco	0550188460	Brr. Guápulo	0979094300	07-08-20	

121	649	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Michelle Tarco	0550188460	Brr. Guápulo	0979094300	07-08-20	
122	656	Propietario	M	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Verónica Soria	0502372185	Brr. Vicente León	0998312776	13-08-20	
123	658	Propietario	M	7 años	Si	Husky	Negativo	María Tigselema	0500616750	Brr. La Merced	0983206901	13-08-20	
124	659	Propietario	M	2 años	Si	Caniche	Negativo	Luz Untuña	0502211550	Brr. Isinche de Alpamalag	0999589756	14-08-20	
125	660	Propietario	M	4 años	Si	Caniche	Negativo	Luz Untuña	0502211550	Brr. Isinche de Alpamalag	0999589756	14-08-20	
126	661	Propietario	M	2 años	Si	Mestizo	Negativo	José Yupangui	1703020329	Brr. Perpetuo Socorro	0999391228	17-08-20	
127	662	Propietario	M	2 años	No	Mestizo	Negativo	Jenny Caiza	0503169385	Brr. Oriente	0961963444	17-08-20	
128	664	propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Martha Pallo	0502537574	Brr. Veintimilla	0987986060	18-08-20	
129	665	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Martha Pallo	0502537574	Brr. Veintimilla	0987986060	18-08-20	
130	671	propietario	H	1 año	No	Mestizo	Negativo	Gladys Curay	0502050156	Brr. Patoa	0998505620	26-08-20	

131	672	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Jessica Espín	0503648198	Cdla. M. Guzmán	0992658778	27-08-20	
132	673	propietario	H	7 años	Si	Mestizo	Negativo	Johnny Nuñez	0503189128	Brr. 4 Esquinas	0995188636	28-08-20	abortos
133	674	propietario	H	3 años	Si	Caniche	Negativo	Eduardo Segovia	0502006331	Brr. 3 de Mayo	0995067212	28-08-20	
134	675	propietario	H	2 años	Si	Pomerania	Negativo	Alejandra Revelo	0502930530	Brr. Centro	0987406059	01-09-20	Piometra
135	676	propietario	H	5 años	Si	Pomerania	Negativo	Alejandra Revelo	0502930530	Brr. Centro	0987406059	01-09-20	Piometra
136	683	propietario	M	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Ana Zumba	0503067795	Cdla Veintimilla	0999718136	07-09-20	Adoptado. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
137	684	propietario	M	2 años	Si	Dachshund	Negativo	Silvia Monge	0502791510	Brr. 4 Esquinas	0998734449	07-09-20	
138	685	propietario	M	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Ana Zumba	0503067795	Cdla Veintimilla	0999718136	07-09-20	
139	686	propietario	M	2 años	Si	Caniche	Positivo	Ana Zumba	0503067795	Cdla Veintimilla	0999718136	07-09-20	Adoptado. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí

140	687	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Gladys Calero	1716475452	Brr. Perpetuo Socorro	0995213311	08-09-20	
141	688	propietario	H	2.5 años	Si	Mestizo	Positivo	Gladys Calero	1716475452	Brr. Perpetuo Socorro	0995213311	08-09-20	Abortos. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
142	689	propietario	M	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Gladys Calero	1716475452	Brr. Perpetuo Socorro	0995213311	08-09-20	
143	690	propietario	H	2.5 años	Si	Mestizo	Positivo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	09-09-20	Montas sin preñez. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
144	691	propietario	H	1.5 años	Si	Mestizo	Positivo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	09-09-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
145	692	propietario	M	1 año	Si	Golden retriever	Negativo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	09-09-20	
146	693	propietario	M	3 años	Si	Golden retriever	Negativo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	10-09-20	
147	694	propietario	H	1.5 años	Si	Caniche	Negativo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	10-09-20	

148	695	propietario	M	1 año	No	Caniche	Negativo	María Sangopanta	0503090029	Brr. Chimbacalle	0998318197	10-09-20	
149	696	propietario	H	2 años	No	Caniche	Negativo	Betty Pastuña	0504324864	Brr. Cruzpamba	0958755708	10-09-20	
150	698	propietario	H	6 años	Si	Mestizo	Negativo	Myriam Olmos	0501793988	Brr. Chimbacalle	0983284765	11-09-20	
151	699	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Erika Tipantuña	0504177007	Clda. Vientimilla	0984387399	15-09-20	
152	700	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Positivo	Silvia Iza	0503095556	Brr. Cruzpamba	0983680627	15-09-20	Montas sin preñez. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
153	701	propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Positivo	Nancy Sánchez	0502409931	Brr. San Sebastián	0984428134	16-09-20	Reabsorción o abortos. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
154	704	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Carlos Chicaiza	1710548841	Brr. Alpamala g de Vascones	0982404410	17-09-20	.
155	705	propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Carlos Chicaiza	1710548841	Brr. Alpamala g de Vascones	0982404410	17-09-20	Montas sin preñez. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí

156	708	Propietario	H	9 años	Si	Caniche	Negativo	Norma Sarasti	0502180037	Brr. Las Gardeñas	0983931322	23-09-20	
157	709	Propietario	H	2 años	Si	Husky	Negativo	Fabricio Choloquina	0550682215	Brr. Cashapamba	0979007048	25-09-20	
158	711	Propietario	M	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Alex Paredes	0503614935	Brr. Rosita Paredes	0987259422	28-09-20	
159	712	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Jomaira Garcia	0502881550	Brr. Guapulo	0984243806	28-09-20	
160	716	Propietario	H	2 años	Si	Pitbull	Negativo	Judith Calero	0502645369	Brr. Danzapamba	0983183384	29-09-20	
161	717	Propietario	H	9 años	Si	Schnauzer	Negativo	Irene Chango	0503384240	Brr. Isinche de Tovares	0983446323	29-09-20	
162	719	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Irene Jacome	0504307711	Brr. San Francisco de Quishuar	S/N	01-10-20	
163	722	Propietario	H	10 años	Si	Mestizo	Negativo	Rosa Rodriguez	0500544556	Brr. Centro	0989188945	01-10-20	
164	723	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Hugo Casañas	0906886437	Brr. Las cuatro esquinas	0992740662	02-10-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí

165	726	Propietario	M	3 años	Si	Mestizo	Positivo	Lorena Casañas	0502571565	Brr. Las cuatro esquinas	0992740662	02-10-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
166	727	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Robinson Rubio	0503343311	Brr. San Sebastian	0995774261	05-10-20	
167	742	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Positivo	Hugo Soria	0503484107	Brr. Patoa de Quevedo	0998656452	16-10-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
168	743	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Carmen Llumiquinga	1703358182	Brr. Patoa de Vacas	0981443641	16-10-20	Abortos. Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
169	744	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Wilfrido Ronquillo	0504748088	Brr. Rumipamba	0963011782	16-10-20	
170	745	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Wilfrido Ronquillo	0504748088	Brr. Rumipamba	0963011782	16-10-20	
171	845	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Wilfrido Ronquillo	0504748088	Brr. Rumipamba	0963011782	16-10-20	
172	846	Propietario	M	2 años	Si	Mestizo	Negativo	María Vargas	0501113047	Brr. Isinche de Infantes	S/N	26-11-20	
173	847	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Juana Simaluisa	0502941255	Brr. San isidro	0999009161	26-11-20	

174	848	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Delia Gavilema	0501693329	Brr. San Buenaventura	0979173954	26-11-20	
175	849	Propietario	H	2 años	Si	Pitbull	Negativo	Mario Sangucho	0502546930	Brr. Sinchahuasín	0994165963	01-12-20	
176	850	Propietario	M	8 años	Si	Caniche	Negativo	Katty Lozada	0503664203	Brr. 3 de Mayo	0996835710	03-12-20	
177	851	Propietario	H	2 años	Si	Husky	Positivo	Nelly Villacres	0501491385	Brr. Jesús del gran poder	0962302255	03-12-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
178	852	Propietario	M	2 años	Si	Viejo Pastor ingles	Negativo	Kléber Paúl Páez Calvopiña	0502514409	Brr. Rosita Paredes	0998535600	03-12-20	
179	853	Propietario	H	3 años	No	Pastor alemán	Negativo	Gustavo Cañar		Brr. Patoa de Vacas	S/N	04-12-20	
180	856	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Olga Cruz	0504354655	Brr. Patoa de Vacas	0983539891	08-12-20	
181	858	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Erika Vega	1724186737	Brr. Calvario Sur	0999960827	08-12-20	
182	859	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Rogher león	0501928378	Brr. San Buenaventura	0997652935	09-12-20	

183	860	Propietario	H	3 años	Si	Mestizo	Negativo	Leslie Anchatipán	0503171985	Brr. San Sebastián	0960867956	09-12-20	
184	861	Propietario	H	1 año	No	Mestizo	Negativo	María Herrera	0500505730	Brr. Centro	0992761450	09-12-20	
185	862	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Piedad Orbea	0601254378	Brr. Centro	3047207	15-12-20	
186	864	Propietario	H	4 años	Si	Caniche	Negativo	José Paca	0602193724	Brr. Sinchahuasín	0991084681	16-12-20	
187	867	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Negativo	Aida Bonilla	0502781132	Brr. San Juan	0998447809	16-12-20	
188	861	Propietario	H	2 años	Si	Caniche	Negativo	diego			0984660596	09-12-20	
189	871	Propietario	H	4 años	Si	Mestizo	Negativo	Manuel Neto	050264023	Brr. Vicente León	0991659850	22-12-20	Montas sin preñez
190	872	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Elsa Oña	0503840159	Brr. Patoa de Quevedo	0995066473	22-12-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
191	873	Propietario	H	2 años	Si	Mestizo	Positivo	Elsa Oña	0503840159	Brr. Patoa de Quevedo	0995066473	22-12-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
192	874	Propietario	M	5 años	Si	Mestizo	Positivo	Elsa Oña	0503840159	Brr. Patoa de Quevedo	0995066473	22-12-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí

193	875	Propietario	H	7 años	Si	Mestizo	Negativo	Javier Chiluisa	0503285124	Brr. Cashapamba	0959885947	23-12-20	
194	876	Propietario	H	2 años	Si	Cocker	Positivo	Paola calero	0502833213	Brr. Danzapamba	0996852663	24-12-20	Eutanasia y reporte al Distrito de Salud Pujilí Saquisilí
195	877	Propietario	M	2 años	No	Dachshund	Negativo	María Paredes	0503036733	Brr. Guápulo	0987615136	24-12-20	
196	49	Callejero	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	
197	50	Callejero	H	2 años y medio	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	
198	51	Callejero	H	1 año	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	
199	52	Callejero	H	2 años y medio	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	
200	53	Callejero	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	
201	54	Callejero	H	1 año	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	10-02-20	

202	56	Callejero	M	4 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
203	57	Callejero	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
204	58	Callejero	H	2 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
205	59	Callejero	H	6 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
206	62	Callejero	H	3 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
207	63	Callejero	H	3 años	si	Mestizo	negativo	Herminia Yáñez	0502634934	Av. Velasco Ibarra	0983202416	02-03-20	
208	76	Callejero	H	Dos años y medio	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	03-02-20	
209	77	Callejero	H	Seis años	si	Pastor alemán	positivo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	03-02-20	Eutanasia y Reporte Distrito de Salud Pujilí - Saquisilí
210	78	Callejero	H	Dos años y medio	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	17-02-20	

211	79	Callejero	H	Año y medio	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	17-02-20	
212	80	Callejero	H	Dos años	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	02-03-20	
213	81	Callejero	H	Año y medio	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	02-03-20	
214	82	Callejero	H	4 años	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	02-03-20	
215	83	Callejero	H	5 años	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	09-03-20	
216	84	Callejero	H	3 años	si	Mestizo	negativo	Norma Acurio	0501343358	Brr. Centro	0998768993	09-03-20	

Anexo 12. Resultados de las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

N°	Código	Categoría	Sexo	Edad	Partos/ montas	Probl repr	Raza	Propietario	C.I.	Dirección	Teléfono	Fecha	Resultado prueba IFI
1	746	propietario	H	4 años	Si	no	Pitbull	Edwin Guamán	0503727398	Brr. La Y	0996966765	19-10-20	NEGATIVO
2	747	Propietario	H	2 años	No	No	Mestizo	Erika Suntasig	0504163528	Brr. El Carvario	0984482211	19-10-20	NEGATIVO
3	748	Propietario	H	3 años	Si	No	Caniche	Sonia Villacis	0502709637	Lotizacon Veintimilla	0999557748	19-10-20	NEGATIVO
4	749	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Martha Chicaiza	0550228019	Brr.Shuyupam ba	0987939110	19-10-20	NEGATIVO
5	750	Propietario	H	8 años	Si	No	Mestizo	Gladys Fauta	0502072507	Brr. Sinchahuasin	0995755353	20-10-20	NEGATIVO
6	751	Propietario	H	5 años	Si	Si	Mestizo	Gladys Fauta	0502072507	Brr. Sinchahuasin	0995755353	20-10-20	NEGATIVO
7	752	Propietario	H	3 años	Si	No	Pitbull	Thalía Ilaquiche	1753081007	Brr. Cashapamba	0984986814	20-10-20	NEGATIVO
8	753	Propietario	H	2 años	No	No	Mestizo	Ítalo Criollo	0503634255	Brr. Patoa de Quevedo	0998027926	20-10-20	NEGATIVO
9	754	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Nelson	0502877731	Brr. El Tejar	0987481641	20-10-20	NEGATIVO

								Riera						
10	755	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Nelson Riera	0502877731	Brr. El Tejar	0987481641	20-10-20	NEGATIVO	
11	756	Propietario	M	2 años	Si	No	Pequinés	Segundo Chiluisa	0503285124	Brr. Cashapamba	0959885947	20-10-20	NEGATIVO	
12	757	Propietario	M	2 años	Si	No	Pequinés	Jimena Suntasig	0503321267	Brr. San Juan	0987786108	20-10-20	NEGATIVO	
13	758	Propietario	H	2 años	Si	No	Husky	José Briones	1309125852	Brr. Chimbacalle	0987800202	20-10-20	NEGATIVO	
14	759	Propietario	M	7 años	Si	No	Golden retriever	Marcia Sarabia	1706951447	Brr. San Juan	0998836361	20-10-20	NEGATIVO	
15	760	Propietario	H	3 años	Si	No	Caniche	Cesar Calero	0502870215	La Victoria	0998210835	21-10-20	POSITIVO	
16	761	Propietario	M	1 año	No	No	Mestizo	Cesar Calero	0502870215	La Victoria	0998210835	21-10-20	NEGATIVO	
17	762	Propietario	M	1 año	No	No	Caniche	Cesar Calero	0502870215	La Victoria	0998210835	21-10-20	NEGATIVO	
18	763	Propietario	M	12 años	Si	No	Mestizo	Marco Jácome	0501359350	Cdla. El Portal	0995389337	21-10-10	POSITIVO	
19	764	Propietario	H	1 año	No	No	Golden retriever	Emma Zurita	0502878754	Brr. Patoa de Quevedo	0979233030	22-10-20	NEGATIVO	
20	765	Propietario	M	2 año	Si	No	Mestizo	Emma Zurita	0502878754	Brr. Patoa de Quevedo	0979233030	22-10-20	NEGATIVO	
21	766	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Soria	0501657241	Brr. Patoa de Quevedo	0987486248	22-10-20	NEGATIVO	
22	767	Propietario	H	1 año 6 meses	Si	No	Dachshund	Carmen Ronquillo	0500952569	Brr. Isinche de Infantes	0983216772	23-10-20	NEGATIVO	

23	768	Propietario	M	4 años	Si	Si	Mestizo	Jhony Chango	0504157769	Brr. Isinche de Infantes	0985882225	23-10-20	NEGATIVO
24	769	Propietario	M	3 años y medio	Si	No	Mestizo	Leonel Tipantuña	0503337693	Brr. Guápulo	0998617678	23-10-20	NEGATIVO
25	770	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	María Chasiluisa	0501646046	Brr. Isinche de Infantes	s/n	26-10-20	NEGATIVO
26	771	Propietario	H	1 año	No	No	Mestizo	María Chasiluisa	0501646046	Brr. Isinche de Infantes	s/n	26-10-20	NEGATIVO
27	772	Propietario	H	2 años	Si	No	Pitbull	Mayra Villacis	0502961287	Cdla. Vicente León	0995258037	26-10-20	NEGATIVO
28	773	Propietario	M	2 años	Si	Si	Mestizo	Maycol Balladares	0504159724	Brr. Nuevo la Y	0987756761	27-10-20	NEGATIVO
29	774	Propietario	H	4 años	Si	Si	Caniche	Mayra Villacis	0502961287	Cdla. Vicente León	0995258037	27-10-20	NEGATIVO
30	775	Propietario	H	10 años	Si	No	Pastor alemán	Miryam Madril	0502045941	Brr. San Juan	099251508	28-10-20	NEGATIVO
31	776	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Lorena Pincha	0502838618	Cdla. Arzobispo Mario Ruiz Navas	098352765	28-10-20	NEGATIVO
32	777	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	Carlos Jacome	0502097090	Brr. Centro	0984645989	28-10-20	POSITIVO
33	778	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Victor Changoluisa	1707800817	Brr. San Marcos	0987920862	29-10-20	NEGATIVO
34	779	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Carmen Ronquillo	0500952569	Isinche de Infantes	0983216772	29-10-20	NEGATIVO

35	780	Propietario	H	2 años	Si	No	Labrador	Jhon Camalli	0503589111	Brr. San Sebastian	0967665268	29-10-20	NEGATIVO
36	781	Propietario	H	1 año	No	No	Pastor alemán	Katerin Cecen	0503966749	Brr. El Portal	0979310095	29-10-20	POSITIVO
37	782	Propietario	H	2 año	Si	No	Mestizo	Katerin Cecen	0503966749	Brr. El Portal	0979310095	29-10-20	NEGATIVO
38	783	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Victor Changoluisa	1707800817	Brr. San Marcos	0987920862	29-10-20	NEGATIVO
39	784	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Carlos Jácome	0502097090	Brr. Centro	0984645989	29-10-20	NEGATIVO
40	785	Propietario	H	2 años	No	No	Mestizo	Martha Chicaiza	0502826167	Brr. Buena Esperanza	0995404799	29-10-20	NEGATIVO
41	786	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Héctor Tigasi	0501419022	Brr. San Nicolas	0998949375	29-10-20	NEGATIVO
42	787	Propietario	M	2 años	Si	No	Mestizo	Julio Zambrano	0503190399	Brr. Las cuatro esquinas	0984831217	02-11-20	NEGATIVO
43	788	Propietario	M	1 año	Si	No	Mestizo	Julio Zambrano	0503190399	Brr. Las cuatro esquinas	0984831217	02-11-20	NEGATIVO
44	789	Propietario	M	2 años	Si	No	Mestizo	Julio Zambrano	0503190399	Brr. Las cuatro esquinas	0984831217	02-11-20	NEGATIVO
45	790	Propietario	M	2 años	Si	No	Caniche	Yolanda Gavilema	0502291164	Brr. San Marcos	0984334549	02-11-20	NEGATIVO
46	791	Propietario	M	2 años	Si	No	Caniche	Yolanda Gavilema	0502291164	Brr. San Marcos	0984334549	02-11-20	NEGATIVO

47	792	Propietario	H	2 años	Si	Si	Mestizo	Verónica Marín	0502385602	Brr. Santo Domingo de la Cruz	0992816949	04-11-20	NEGATIVO
48	793	Propietario	H	1 año	No	No	Pug	Jessica Carvajal	0503901183	Brr. Las Cuatro Esquinas	0992816949	04-11-20	NEGATIVO
49	794	Propietario	H	3 años	Si	No	Schnauzer	Jessica Carvajal	0503901183	Brr. Las Cuatro Esquinas	0992816949	04-11-20	NEGATIVO
50	795	Propietario	H	1 año	Si	No	Mestizo	Jessica Carvajal	0503901183	Brr. Las Cuatro Esquinas	0992816949	04-11-20	NEGATIVO
51	796	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Unaicho	0503594707	Brr Patoa de Vacas	0998390802	05-11-20	POSITIVO
52	797	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	Thalía Vizuete	0502230774	La Merced	2344022	05-11-20	NEGATIVO
53	798	Propietario	H	1 año y medio	No	No	Mestizo	Adriana Untuña	0503074262	Isinche de Alpamala	0986012058	5-11-20	POSITIVO
54	799	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	María Sotalin	0501302772	Patoa de Quevedo	0984908701	6-11-20	NEGATIVO
55	800	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Sotalin	0501302772	Patoa de Quevedo	0984908701	6-11-20	NEGATIVO
56	801	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	Washington Luna	0501600795	Brr. La Y	0990527708	6-11-20	NEGATIVO
57	802	Propietario	H	4 años	Si	No	Mestizo	Alex	0503447609	Brr. San	09	9-11-20	NEGATIVO

								Caillagua		Sebastian			
58	803	Propietario	H	4 años	Si	No	Mestizo	Alex Caillagua	0503447609	Brr. San Sebastian	09	9-11-20	NEGATIVO
59	804	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	Marcia Tayo	0502544000	Brr. Patoa de Vallejos	0979383837	9-11-10	NEGATIVO
60	805	Propietario	H	2 años	No	No	Mestizo	Nely Albarracin	0503808834	Brr. Guapulo	0984099718	9-11-20	NEGATIVO
61	806	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Ana Vizuete	0501711360	Brr. La Merced	0992698476	9-11-20	NEGATIVO
62	807	Propietario	H	3 años	Si	Si	Mestizo	Ana Vizuete	0501711360	Brr. La Merced	0992698476	9-11-20	NEGATIVO
63	808	Propietario	H	1 año	No	No	Mestizo	Ana Vizuete	0501711360	Brr. La Merced	0992698476	9-11-20	NEGATIVO
64	809	Propietario	M	6 años	Si	No	Mestizo	Robinson Rubio	0503343311	Brr. Centro	0984422774	10-11-20	NEGATIVO
65	810	Propietario	H	4 años	Si	No	Mestizo	Robinson Rubio	0503343311	Brr. Centro	0984422774	10-11-20	NEGATIVO
66	811	Propietario	H	4 años	Si	No	Mestizo	Emma Zurita	0502878754	Brr. Patoa de Quevedo	0979233030	11-11-20	POSITIVO
67	812	Propietario	H	4 años	Si	No	Caniche	Emma Zurita	0502878754	Brr. Patoa de Quevedo	0979233030	11-11-20	POSITIVO
68	813	Propietario	H	4 años	Si	No	Golden retriever	Emma Zurita	0502878754	Brr. Patoa de Quevedo	0979233030	11-11-20	NEGATIVO
69	814	Propietario	H	1 año	No	No	Mestizo	Rita Caicedo	0502049752	Brr. Las cuatro	0984382111	12-11-20	NEGATIVO

										esquinas			
70	815	Propietario	H	3 años	Si	No	Pastor alemán	Jorge Tipanquiza	0502022742	Brr. Centro	0984672921	12-11-20	NEGATIVO
71	816	Propietario	H	10 años	Si	No	Mestizo	Evelyn Mejia	055006671	Brr. Sinchahuasin	0984576918	12-11-20	POSITIVO
72	817	Propietario	H	1 año 5 meses	Si	No	Mestizo	Luis Guaman	0503737355	Brr. El Batan	0998752165	12-11-20	NEGATIVO
73	818	Propietario	H	1 año	No	No	Mestizo	Carmen Ilaquiche	0504081597	Brr. San Buenaventura	0958833720	13-11-20	NEGATIVO
74	819	Propietario	M	5 años	Si	No	Mestizo	Hector Tigasi	0501419022	Brr. San Nicolas	0998949375	13-11-20	POSITIVO
75	820	Propietario	H	5 años	Si	No	Caniche	Alicia Aleman	1713380572	Brr. Las cuatro esquinas	0984809542	13-11-20	NEGATIVO
76	821	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	María Velasquez	0501999437	Patoa de vacas	0995377735	16-11-20	NEGATIVO
77	822	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Velasquez	0501999437	Patoa de vacas	0995377735	16-11-20	NEGATIVO
78	823	Propietario	H	2 años	No	No	Pastor alemán	Cristian Ortiz	0502027881	Brr. Rosita Paredes	0987966551	16-11-20	NEGATIVO
79	824	Propietario	H	6 años	Si	No	Mestizo	María Sangopanta	0502092612	Brr. Patoa de Vacas	0998530003	18-11-20	NEGATIVO
80	825	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	María Sangopanta	0502092612	Brr. Patoa de Vacas	0998530003	18-11-20	NEGATIVO
81	826	Propietario	H	7 años	Si	No	Mestizo	María	0501999437	Brr. Patoa de	0987832821	18-11-20	NEGATIVO

								Velasquez		Quevedos			
82	827	Propietario	H	1 año	No	No	Caniche	María Velasquez	0501999437	Brr. Patoa de Quevedos	0987832821	18-11-20	NEGATIVO
83	828	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	María Velasquez	0501999437	Brr. Patoa de Quevedos	0987832821	18-11-20	NEGATIVO
84	829	Propietario	M	5 años	Si	No	Golden Retriever	María Amores	0504082991	Brr. Buena Esperanza	0995500200	19-11-20	NEGATIVO
85	830	Propietario	H	1.5 años	Si	No	Mestizo	Nataly Toro	0550252704	Brr. Isinche Grande	0983281525	19-11-20	NEGATIVO
86	831	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Topa	0504048984	Brr. El Portal	0984732586	19-11-20	NEGATIVO
87	832	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	María Topa	0504048984	Brr. El Portal	0984732586	19-11-20	POSITIVO
88	833	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Klever Llugsha	1804996401	Brr. Calvario Sur	0983556331	20-11-20	POSITIVO
89	834	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	Klever Llugsha	1804996401	Brr. Calvario Sur	0983556331	20-11-20	NEGATIVO
90	835	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	José Ulloa	0502733793	Brr. Patoa de Quevedos	0983556331	20-11-20	NEGATIVO
91	836	Propietario	H	5 años	Si	No	Mestizo	Jose Ulloa	0502733793	Brr. Patoa de Quevedos	0983556331	20-11-20	NEGATIVO
92	837	Propietario	H	2 años	No	No	Pastor alemán	Cristian Ortiz	0502027881	Brr. Rosita Paredes	0987966551	20-11-20	NEGATIVO
93	838	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	María Guamán	0500568894	Brr. Aldea Modelo	0998309727	23-11-20	POSITIVO
94	839	Propietario	H	3 años	Si	No	Mestizo	María	0503173031	Brr. Calvario	0998726083	23-11-20	NEGATIVO

								Escobar		Sur			
95	840	Propietario	H	1 año	Si	No	Mestizo	Carmita Vega	1780349206	Brr. El Batán	0983003761	23-11-20	NEGATIVO
96	841	Propietario	H	2 años	Si	No	Mestizo	Carmita Vega	1780349206	Brr. El Batán	0983003761	23-11-20	NEGATIVO
97	842	Propietario	H	1 año	No	No	Mestizo	Jessica Toapanta	0503847352	Brr. Veintimilla	0984244577	24-11-20	POSITIVO
98	843	Propietario	M	13 años	Si	No	Mestizo	Mónica Topa	0504048984	Brr. El Portal	0984732586	25-11-20	NEGATIVO
99	844	Propietario	H	2 años	Si	No	Caniche	Jessica Albán	0503826778	Brr. Guápulo	0987435519	25-11-20	NEGATIVO
100	845	Propietario	H	4 años	Si	No	Mestizo	Verónica Otto	1726595133	Brr. El Portal	0983240700	25-11-20	NEGATIVO

Cuadro Brucelosis canina - muestras de suero

Atentamente




Sandra Bravo. Recepción de Pedidos / Atención al Cliente Laboratorio de Diagnóstico LIVEXLAB Cía Ltda. Calle Carlos Alvarado N50-09 y los Álamos

Anexo 13. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta IFI, resultado de laboratorio NEGATIVO.

Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
Telf: 2411-637 / 0995003160 Fax: 2412-494
e-mail: resultados@livex.com.ec
Quito-Ecuador

INFORME DE RESULTADO

CASO:	U-2490	MUESTRAS:	Suero
CLIENTE:	Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí	NOMBRE PACIENTE:	746
PROPIETARIO:	Edwin Guamán	ESPECIE:	Canina
DIRECCION DEL PROPIETARIO:	Brr. La Y	RAZA:	Pitbull
CLINICA:	Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí	SEXO:	H
DIRECCION DE LA CLINICA:	Cotopaxi, Pujilí – García Moreno 5-00 y José Joaquín Olmedo	EDAD:	4 años
MEDICO REMITENTE:	Kléber Páez	TELEFONO:	0996966765
FECHA DE TOMA DE MUESTRA:	19/10/2020	RESPONSABLE:	Cristina Montalvo
FECHA DE RECEPCION:	27/11/2020	CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO:	18 ° C – 25 ° C
FECHA DE ANALISIS:	02/12/2020		
FECHA DE EMISION DEL INFORME:	08/12/2020		

Anamnesis: No refiere.

Tratamientos antes de la toma de muestra: No refiere.

RESULTADOS

Prueba:	<i>Brucella cannis</i>	Método:	Inmunofluorescencia indirecta LVX/MAL/13
Tipo de Inmunoglobulina	IgG		
Dilución	1/100		
Unidad	POSITIVO/Negativo		

No	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
U-2490-1	746	Negativo

Prueba:	<i>Brucella cannis</i>	Método:	Inmunofluorescencia indirecta LVX/MAL/13
Tipo de Inmunoglobulina	IgG		
Dilución	1/200		
Unidad	POSITIVO/Negativo		

No	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
-	-	-

INTERPRETACION DE LA PRUEBA:

Dilución	Resultado	INTERPRETACIÓN
1/100	POSITIVO	SOSPECHOSO
1/200	POSITIVO	POSITIVO

COMENTARIO: En resultados NEGATIVOS el diagnóstico del paciente deberá ser evaluado conjuntamente con la signología clínica y someterlo a nuevos muestreos. Para considerar a un perro negativo definitivamente, es necesario por lo menos tres resultados negativos, con intervalo de 30 días, sin probable exposición del paciente al antígeno en el periodo de diagnóstico.

LVX/FOR/MC2301-03-BRUC-IFI

Anexo 14. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta IFI, resultado de laboratorio POSITIVO.

Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
Telf: 2411-637 / 0995003160 Fax: 2412-494
e-mail: resultados@livex.com.ec
Quito-Ecuador

INFORME DE RESULTADO

CASO:	U-2490	MUESTRAS:	Suero
CLIENTE:	Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí	NOMBRE PACIENTE:	796
PROPIETARIO:	María Unacho	ESPECIE:	Canina
DIRECCION DEL PROPIETARIO:	Brr Patoa de Vacas	RAZA:	Mestizo
CLINICA:	Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Intercultural del Cantón Pujilí	SEXO:	H
DIRECCION DE LA CLINICA:	Cotopaxi, Pujilí – García Moreno 5-00 y José Joaquín Olmedo	EDAD:	2 años
MEDICO REMITENTE:	Kléber Páez	TELEFONO:	0998390802
FECHA DE TOMA DE MUESTRA:	05/11/2020	RESPONSABLE:	Cristina Montalvo
FECHA DE RECEPCION:	27/11/2020	CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO:	18 ° C – 25 ° C
FECHA DE ANALISIS:	03/12/2020 y 08/12/2020		
FECHA DE EMISION DEL INFORME:	09/12/2020		

Anamnesis: No refiere.	Tratamientos antes de la toma de muestra: No refiere.
-------------------------------	--

RESULTADOS

Prueba:	<i>Brucella canis</i>	Método:	Inmunofluorescencia indirecta LVX/MAL/13
Tipo de Inmunoglobulina	IgG		
Dilución	1/100		
Unidad	POSITIVO/Negativo		

No	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
U-2490-51	796	POSITIVO

Prueba:	<i>Brucella canis</i>	Método:	Inmunofluorescencia indirecta LVX/MAL/13
Tipo de Inmunoglobulina	IgG		
Dilución	1/200		
Unidad	POSITIVO/Negativo		

No	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
U-2490-51	796	POSITIVO

INTERPRETACION DE LA PRUEBA:

Dilución	Resultado	INTERPRETACIÓN
1/100	POSITIVO	SOSPECHOSO
1/200	POSITIVO	POSITIVO

COMENTARIO: En resultados *NEGATIVOS* el diagnóstico del paciente deberá ser evaluado conjuntamente con la signología clínica y someterlo a nuevos muestreos. Para considerar a un perro negativo definitivamente, es necesario por lo menos tres resultados negativos, con intervalo de 30 días, sin probable exposición del paciente al antígeno en el periodo de diagnóstico.

LVX/FOR/MC2301-03-BRUC-IFI