****

**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, DOCTORADOS E INNOVACIÓN**

**DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN**

**COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN FORMATIVA**

**CONVOCATORIA A CONCURSO DE PROYECTO SEMILLA FASE 4.**

**FORMULARIO DE PRESENTACIÓN DE PROTOCOLO**

|  |
| --- |
| **1.- DATOS GENERALES** |

|  |
| --- |
| 1.1.- Áreas de conocimiento |
| Ciencias Sociales |  | Ciencias de la Vida y Salud | X | Ciencias Exactas |  |

|  |
| --- |
| 1.2.- Título del Proyecto |
| Determinación de *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, Virus de la Leucemia Felina y Virus del Distemper Canino en tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio en las regiones Costa, Sierra y Oriente del Ecuador.  |

|  |
| --- |
| 1.3.- Fuentes de Financiamiento |
| Financiamiento |  | Ingrese el monto en caso de que la opción sea SI |
| Fondos Uce ConcursableMáximo $3000 | SI | Monto Total $: 2796.87 |
| Fondos Propios | NO | Monto Total $:0 |

|  |
| --- |
| 1.4.- Duración del Proyecto |
| Número de Meses estimadosMáximo 6 meses | 6 |

|  |
| --- |
| **2.- PARTICIPANTES EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO** |

|  |
| --- |
| **INVESTIGADOR – DIRECTOR DEL PROYECTO (DOCENTE TITULAR TIEMPO COMPLETO)** |
| Apellidos | CADIER | Nombres | JULIETTE |
| Numero de cedula de identidad | 1755557764 | Dirección Domiciliaria | Jaime Andrade y Endara Crow |
| Titulo Tercer Nivel | Doctora Veterinaria  | Titulo Cuarto Nivel | Diploma de estudios fundamentales veterinarios (equivalente a Maestría) |
| Categoría Docente | Elija un elemento. | Tiempo de Dedicación | Auxiliar 1Tiempo Completo |
| Facultad | FMVZ | Carrera | MVZ |
| Teléfono Fijo | 3350335 | Teléfono Móvil | 0998328556 |
| Email Institucional  | jcadier@uce.edu.ec | Email Personal  | juliettecadier@hotmail.com |
| Resumen de experiencia previa en investigación | * Estudio de comportamiento y respuesta electrofisiológica a orina de diferentes mamíferos en dos especies de tábanos
* Estudio de protocolos vacunales en caninos según su modo de vida
 |

|  |
| --- |
| **INVESTIGADOR – ADJUNTO (DOCENTE TITULAR)***Máximo dos docentes adjuntos con distinto tiempo de dedicación*  |
| Apellidos | GALLO DIAZ | Nombres | MARIA SUSANA |
| Número de cedula de identidad | 1716165863 | Dirección Domiciliaria | Granda centeno |
| Titulo Tercer Nivel | Médico Veterinario Zootecnista | Titulo Cuarto Nivel | Master en estudios veterinarios en medicina de la conservación |
| Categoría Docente | Elija un elemento. | Tiempo de DedicaciónAuxiliar 1 | Tiempo Completo |
| Facultad | FMVZ | Carrera | MVZ |
| Teléfono Fijo | 2440180 | Teléfono Móvil | 0999934243 |
| Email Institucional  | sgallo@uce.edu.ec | Email Personal  | susanagallo@yahoo.com |
| Resumen de experiencia previa en investigación | Estudio de comportamiento de felinos silvestres mantenidos en cautiverio en el zoológico de Quito en GuayllabamabaParasitología del Guepardo (*Acinonyx jubatus*), Fondo para la Conservación del Guepardo. |
| **INVESTIGADOR – ADJUNTO (DOCENTE TITULAR)***Máximo dos docentes adjuntos con distinto tiempo de dedicación*  |
| Apellidos |  | Nombres |  |
| Número de cedula de identidad |  | Dirección Domiciliaria |  |
| Titulo Tercer Nivel |  | Titulo Cuarto Nivel |  |
| Categoría Docente | Elija un elemento. | Tiempo de Dedicación | Elija un elemento. |
| Facultad |  | Carrera |  |
| Teléfono Fijo |  | Teléfono Móvil |  |
| Email Institucional  |  | Email Personal  |  |
| Resumen de experiencia previa en investigación |  |

**(Solo participarán estudiantes voluntarios, no pasantes)**

|  |
| --- |
| **ESTUDIANTES***Máximo tres estudiantes adjuntos con distinto tiempo de dedicación* |
| Apellidos | LEON JARAMILLO | Nombres | ERIKA JANNETH |
| Tipo de Identificación  | Cédula | Número de cedula / pasaporte |   |
| Nivel de Instrucción  | Pregrado  | Facultad | FMVZ |
| Programa de Posgrado |  | Carrera | MVZ |
| Semestre / Nivel | Egresada |  |  |
| Teléfono Fijo | 3228479 | Teléfono Móvil | 0995773823 |
| Email Institucional  |  | Email Personal  | erikajlj\_1812@hotmail.com |

|  |
| --- |
| **ESTUDIANTES***Máximo tres estudiantes adjuntos con distinto tiempo de dedicación* |
| Apellidos | Lasso | Nombres | **Geovanna** |
| Tipo de Identificación  | Cédula | Número de cedula / pasaporte |  |
| Nivel de Instrucción  | Pregrado  | Facultad | **FMVZ** |
| Programa de Posgrado |  | Carrera | **MVZ** |
| Semestre / Nivel | Egresada |  |  |
| Teléfono Fijo |  | Teléfono Móvil | **0984868415** |
| Email Institucional  |  | Email Personal  | geovanna.lasso0891@hotmail.com |

|  |
| --- |
| **ESTUDIANTES***Máximo tres estudiantes adjuntos con distinto tiempo de dedicación* |
| Apellidos | DE LA TORRE MANJARREZ | Nombres | **KAREN ANDREA** |
| Tipo de Identificación  | Cédula | Número de cedula / pasaporte | **1717722860** |
| Nivel de Instrucción  | Pregrado  | Facultad | FMVZ |
| Programa de Posgrado |  | Carrera | MVZ |
| Semestre / Nivel | Décimo  |  |  |
| Teléfono Fijo | 2294357 | Teléfono Móvil | **0984547427** |
| Email Institucional  | kadelatorre@uce.edu.ec | Email Personal  | **karen.delat1.4@hotmail.com** |

|  |
| --- |
| **3.- RESUMEN EJECUTIVO (Máximo 250 palabras)***Realizar una síntesis clara y concisa sobre el proyecto que incluya: Antecedentes, Objetivo general, metodología y resultados esperados (Hasta tres).* |
| *Antecedentes:*Al haber poca investigación realizada en felinos silvestres en el Ecuador y al no contar con datos sobre el estado sanitario de Tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio es relevante determinar la presencia de los patógenos como Virus de Inmuodeficiencia Felina, y Virus del Distemper Canino, así como la presencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en estos felinos. Existen factores que amenazan la supervivencia de esta especie tales como el cambio climático, la reducción y destrucción del hábitat y la interacción cercana entre animales domésticos y silvestres que a su vez facilitan la transmisión de patógenos, sumado al riesgo zoonótico presente. El Ecuador está orientado a conservar la biodiversidad que lo caracteriza, por lo que se requiere de una planificación seria, basada en evidencia clínica que realmente permitan seleccionar individuos aptos para proyectos de Conservación. *Objetivo general:*Determinar si los tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio en las regiones Costa, Sierra y Oriente del Ecuador son portadores de *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, Virus de la Leucemia Felina y Virus del Distemper Canino. *Metodología:*Se realizará un estudio de tipo transversal y observacional en el cual se determinará la presencia de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, y Virus del Distemper Canino; y de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felina en aproximadamente 80 tigrillos mantenidos en cautiverio mediante estudios serológicos. *Resultados esperados:**R1:* Identificación de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii,* Virus de Inmuodeficiencia Felina y Virus del Distemper Canino; y de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felinaen tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio.R2: Identificación de una relación entre los factores de riesgo encontrados y la presencia de las enfermedades infecciosas. |

|  |
| --- |
| **4.- MARCO TEÓRICO (Máximo 2000 palabras)***Es la base de conocimientos (estado del arte) sobre el tema para plantear el problema o para encontrar la pregunta de investigación. Debe contener citas bibliográficas utilizando gestores de contenido (Zotero, Mendeley).* |
| Las enfermedades infecciosas y parasitarias de la fauna silvestre representan un riesgo tanto para animales domésticos como para el ser humano. Se conoce que el 75% de las enfermedades zoonóticas tiene origen en animales silvestres y el 60% de las enfermedades infecciosas que afectan al ser humano son zoonosis (Gómez, 2014). La Toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes en todo el mundo (Tenter, Heckeroth, & Weiss, 2000). Es causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*, el cual es un parásito intracelular obligado (OIE, 2008). Los gatos domésticos y casi todas las especies de felinos silvestres son huéspedes definitivos para T. gondii, entre las que se incluye al ocelote o tigrillo (*Leopardus pardalis*). Los huéspedes intermediarios son los animales de sangre caliente, incluyendo el ser humano (Cañón-Francoa, et al., 2013).Por otra parte, el reciente incremento de enfermedades que afectan a los animales silvestres se encuentra asociado a la aparición de cepas más patógenas, co-infecciones con otros patógenos y alteraciones en las relaciones huésped-patógeno (Furtado y Filoni, 2008), así como cambios en el medio ambiente, la fragmentación y pérdida del hábitat, los asentamientos humanos y el contacto estrecho con los animales domésticos. Estos factores aumentan las probabilidades de transmisión de enfermedades entre animales domésticos y silvestres y es una de las principales causas de las llamadas enfermedades emergentes (Mora. et.al, 2015; Whiteman et al., 2007).Los patógenos que participan más frecuentemente en el salto interespecífico del huésped son los virus ARN que se transmiten a través del contacto directo (Mora, et.al, 2015). Dos de los virus ARN más importantes en gatos domésticos (*Felis catus*) que afectan el sistema inmune y presentan similar sintomatología, son el virus de la Inmunodeficiencia Felina (FIV) y el virus de la Leucemia Felina (FeLV) (Mora, 2011).Estos virus también han sido encontrados en varias especies de felinos silvestres tanto en animales de vida libre como animales de cautiverio. En el caso de la Inmunodeficiencia Viral Felina, se ha encontrado en leones *(Panthera leo),* leopardos *(Panthera pardus*) en África, Gato de Pallas (*Otocolobus manul*) en Asia Central y pumas *(Puma concolor),* Lince rojo *(Lynx rufus*), Lince Ibérico *(Lynx pardinus),* Cheetahs *(Acinonyx jubatus),* Gato Montés *(Leopardus colocolo)* en Norteamérica. En Sudamérica, se ha observado en Jaguares *(Panthera onca),* Gato de Bengala *(Prionailurus bengalensis),* Yaguarundi *(Puma yagouaroundi)*, Oncillas *(Leopardus tigrinus)* en Brasil. En Chile se ha identificado un virus relacionado con FIV, lo cual se ha evidenciado por la presencia de anticuerpos séricos que reaccionan con antígenos de FIV (Filoni, Catão-Dias, Lutz, & Hofmann-Lehmann, 2008) De la misma forma, el virus del Distemper Canino (DC) es una enfermedad infecciosa de distribución mundial, siendo el perro el principal hospedador y reservorio de este. Además, tiene gran importancia e implicaciones para los carnívoros silvestres, especies de fauna silvestre amenazada y para colecciones zoológicas, ya que está presente en las familias Canidae, Felidae, Hyaenidae, Mustelidae, Procyonidae, Ursidae y Viverridae (Deem, Spelman, Yates, & Montali, 2000).Inclusive se considera que algunas especies de felinos como el León Africano (*Panthera leo*), juegan un papel muy importante en la transmisión del patógeno dentro de la familia Felidae ya que no son simples hospedadores sino que tienen un rol activo dentro de la ecología de la enfermedad (Terio & Craft, 2013).En años recientes, el estudio del DC en felinos ha tomado mayor interés debido a que se ha asociado con cambios conductuales que denotan un incremento en la agresividad de los animales y la aparente pérdida de temor al ser humano, como en los casos investigados en Tigres de Amur (*Panthera tigris altaica*) en Rusia (Guynup, 2014). Se ha reportado la presencia de este virus en Tigrillos (Leopardus pardalis) de vida libre y cautiverio en Centro y Sudamérica, tanto en Costa rica (Avendaño et al., 2016) como en Bolivia (Fiorello, Noss, Deem, Maffei, & Dubovi, 2007).No existen estudios en Ecuador en cuanto a la presencia de estas enfermedades en los Tigrillos. Tampoco se conoce el número de Tigrillos que viven en vida libre en el país. Se estima a 80 el número de Tigrillos en centros de cautiverio en Ecuador, según el último censo realizado por el Ministerio del Ambiente en el 2016 (MAE, 2016). |

|  |
| --- |
| **5.- PREGUNTA DIRECTRIZ DEL PROYECTO** *Una sola pregunta, viene del marco teórico.* |
| Existen infecciones por *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, Virus de la Leucemia Felina, Virus del Distemper Canino en tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio en las regiones Costa, Sierra y Oriente del Ecuador?  |
| **6.- JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN** *Describe los elementos clave en los que se basa la propuesta de investigación* |
| Al considerar que enfermedades como la Toxoplasmosis representan una zoonosis y que los felinos silvestres juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad como huéspedes definitivos, se puede considerar que las personas que interactúan de forma directa como los veterinarios e indirecta como los cuidadores constituyen una población en riesgo de contraer el patógeno. Otro factor a considerar es la alimentación de los Tigrillos que se proporciona en los zoológicos y centros de rescate, ya que es a base carne cruda de distintas especies, muchas veces proveniente de lugares poco higiénicos, lo que incrementaría el riesgo de que los animales puedan tener el patógeno y desarrollar la enfermedad.Por otra parte, la interacción entre fauna silvestre y fauna doméstica, así como los conflictos potenciales entre humanos y fauna silvestre por reducción, destrucción de hábitat natural e incluso por cambio climático incrementan notablemente el riesgo de transmisión de patógenos a especies vulnerables como los Tigrillos.Los patógenos virales que han sido más investigados en felinos silvestres son el virus del Distemper Canino, Inmunodeficiencia felina, Leucemia felina entre otros, ya que se piensa que pueden disminuir la tasa de supervivencia de esta especie; además, tomando en cuenta los 5 parámetros de Bienestar Animal que deben mantenerse en los animales en condiciones de cautiverio, se debe velar por que estos no padezcan enfermedades que deterioren su calidad de vida. Al haber poca investigación realizada en felinos silvestres en el país y al no contar con datos sobre el estado sanitario de estos animales en cautiverio es relevante determinar la presencia de los patógenos mencionados así como la presencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en tigrillos en el Ecuador para que se puedan planificar proyectos de Conservación basados en evidencia clínica que realmente permitan seleccionar individuos aptos para este fin.  |

|  |
| --- |
| **7.- HIPÓTESIS PRINCIPAL** *Es la respuesta que el investigador da a la pregunta (mandatorio en diseños experimentales, y en diseños observacionales correlacionales o que investiguen causa-efecto)* |
| Los Tigrillos *(Leopardus pardalis)* mantenidos en cautiverio en las regiones Costa, Sierra y Oriente del Ecuador poseen titulación positiva de anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii,* Virus de la Inmunodeficiencia felina y Virus del Distemper canino; y se encuentran antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felina. |
| **8.- OBJETIVO GENERAL***Identifica la finalidad de la investigación. El objetivo responde a las preguntas "qué" y "para qué". Es el conjunto de resultados que el proyecto de investigación se propone alcanzar a través de las actividades planificadas.* |
| Determinar si los tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio en las regiones Costa, Sierra y Oriente del Ecuador son portadores de *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, Virus de la Leucemia Felina y Virus del Distemper Canino.  |

|  |
| --- |
| **9.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS***Son los pasos que se han de seguir para la consecución del objetivo general. Deben ser bien delimitados, estar claramente expuestos y ser coherentes con el tema propuesto, ser medibles en términos de logros observables y verificables durante el período de ejecución del proyecto.* ***Máximo hasta cinco objetivos****. Deben escribirse en orden cronológico y ser alcanzados durante el desarrollo de la investigación.* |
| OE1: Determinar la presencia de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii,* Virus de Inmuodeficiencia Felina y Virus del Distemper Canino; y de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felinaen tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio. |
| OE2: Evaluar los factores de riesgo de contagio de los tigrillos por estos agentes infecciosos en centros de cautiverio mediante encuesta epidemiológica. |
| OE3: Examinar la relación entre la presencia de estas enfermedades infecciosas y los factores de riesgo de contagio de los tigrillos en centros de cautiverio.  |
| **10.- METODOLOGÍA***Describe el proceso que va a seguir para cumplir los objetivos o demostrar la hipótesis.* |
| 10.1.- Diseño del Estudio*(Redacción que incluye el tipo de estudio, sujetos u objetos que participarán, y qué se realizará)* |
| Se realizará un estudio transversal y observacional en el cual se determinará la presencia de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii*, Virus de Inmuodeficiencia Felina, y Virus del Distemper Canino; y de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felina en aproximadamente 80 tigrillos mantenidos en cautiverio mediante estudios serológicos. Adicionalmente, se realizará una encuesta epidemiológica para identificar los factores de riesgo para el contagio de estos agentes infecciosos.  |

|  |
| --- |
| 10.2.- Sujetos y Tamaño de la Muestra *(Es mandatorio en proyectos con seres vivos, explicar cómo se calculó la muestra, poner fórmulas. Si trabaja con el universo indicar el número de sujetos) (SI no aplica ponga no aplica)* |
| Se tomarán muestras de sangre de los tigrillos mantenidos en centros de cautiverio a los cuales se permita acceder. Se estima que existen 80 tigrillos mantenidos en centros de rescate y zoológicos en el Ecuador.Para calcular el tamaño de la muestra, se utilizará la siguiente fórmula que se usa estudios de detección de una enfermedad en una población (Noordhuizen, Frankena, Thursfield, & Graat, 2001):n = tamaño de la muestraN = tamaño de la población = 80P = Probabilidad de encontrar al menos un positivo (IC=95%). d = Número de casos detectables en una población. = 50%$n=\left[1-(0.05)^{\frac{1}{40}}\right] x \left[80-\frac{40-1}{2}\right]$ $$n=0.08 x 60.5 $$$$n=4.84 $$ Por lo tanto en los centros de rescate o zoológicos donde existan más de 5 individuos se realizará un muestreo de 5 individuos al azar, en aquellos centros donde existan menos de 5 individuos se deberán tomar muestras sanguíneas a todos los individuos de cada centro de rescate o zoológico.Se incluirá a todos los individuos de la especie *Leopardus pardalis*, tal como fue descrita por Linnaeus en 1758.Se excluirán a las muestras hemolizadas o en cantidad insuficiente.  |

|  |
| --- |
| 10.3.- Definición y medición de variables *(Describa claramente todas las variables a investigar, sus dimensiones, los instrumentos)*  |
| Las variables independientes son las siguientes: * El **sexo** de los tigrillos se comprobará mediante la consulta de los registros del centro de cautiverio, determinando si el sujeto es macho o hembra. Esta información se registrará en la ficha clínica del animal.
* El **estado reproductivo** de los tigrillos se determinará como esterilizado, es decir que ha sido sometido a una cirugía de extracción de gónadas; o entero, es decir que su aparato reproductor está intacto. Esta variable se comprobará mediante consulta de los registros del centro de cautiverio. Esta información se registrará en la ficha clínica del animal.
* La **edad** de los tigrillos se comprobará mediante la consulta de los registros del centro de cautiverio y se registrará en años y meses cumplidos. Esta información se registrará en la ficha clínica del animal.
* El **origen** del tigrillo se refiere a cómo llegó a estar en el centro de cautiverio: el animal nació en el centro o fue rescatado. Esta información se registrará en la ficha clínica del animal.
* El **tiempo de alojo del animal en el centro de rescate** se entiende como el tiempo desde que ingresó el animal al centro mediante la consulta de los registros centro de cautiverio y se registrará en años y meses cumplidos.
* La **convivencia en grupo** de los tigrillos, es decir si viven en un encierro o si viven con otros tigrillos, se observará el día de la toma de muestra y se anotará en la ficha clínica del animal.
* La **dieta** del tigrillo, es decir la composición de lo que come el animal, se preguntará al cuidador del centro de cautiverio y se anotará en la ficha clínica del animal. Esta dieta puede estar compuesta de: carne cruda de pollo, carne cruda de vaca, carne cruda de caballo, carne cruda de cerdo, carne cruda de animales silvestres o balanceado.
* La **procedencia de la carne**, es decir de donde viene la carne que come el tigrillo, será una información proporcionada por el cuidador del centro de cautiverio y anotada en la ficha clínica del tigrillo. La carne puede provenir de producción propia del centro, donaciones o de compra de parte del centro.
* El **método de conservación de la carne**, es decir cómo se almacena la carne antes de ser distribuida a los felinos, puede ser: conservación en refrigeración, congelación o a temperatura ambiente. Esta información será proporcionada por el cuidador del centro de cautiverio y anotada en la ficha clínica del tigrillo.
* La **temperatura de conservación de la carne**, es decir a qué temperatura se conserva la carne, será registrada en grados centígrados en la ficha clínica del tigrillo. La temperatura será informada por el cuidador del centro de cautiverio.
* El **tiempo de almacenamiento de la carne**, es decir el tiempo que trascurre entre la llegada de la carne al centro y la distribución de la carne a los animales, se registrará en la ficha clínica del animal, gracias a la información proporcionada por el cuidador del centro de cautiverio.
* La **presencia de gatos ferales** (un gato que no tiene dueño y que sobrevive por sus propios medios) en el centro de cautiverio o en sus alrededores, se registrará en la encuesta al cuidador de los tigrillos. Los gatos ferales pueden estar presentes o ausentes.
* La **presencia de roedores** (ratas, ratones, roedores silvestres) en el centro de cautiverio o en sus alrededores, se registrará en la encuesta al cuidador de los tigrillos. Los roedores pueden estar presentes o ausentes.
* La **presencia de aves silvestres** (que no pertenecen al centro de cautiverio) en el centro de cautiverio o en sus alrededores, se registrará en la encuesta al cuidador de los tigrillos. Las aves silvestres pueden estar presentes o ausentes.
* La **frecuencia de limpieza** **de las heces** en los encierros, es decir cada cuanto tiempo se recoge las heces de los tigrillos, se registrará en número de veces que se recoge las heces por semana. El cuidador del centro de cautiverio nos proporcionará esta información.

Las variables dependientes son las siguientes: * Se determinará la presencia o ausencia de **anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii*** en tigrillos mediante el uso del kit ID Screen Toxoplasmosis Indirect (IDVet innovative diagnostics).
* Se determinará la presencia o ausencia de **anticuerpos dirigidos contra el Virus de la Inmunodeficiencia Felina** en tigrillos mediante el uso del kit SNAP® Combo Plus
* Se determinará la presencia o ausencia de **antìgenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felina** en tigrillos mediante el uso del kit SNAP® Combo Plus
* Se determinará la presencia o ausencia de **anticuerpos dirigidos contra el Virus del Distemper Canino** en tigrillos mediante un estudio de inmunofluorescencia en el laboratorio veterinario Livexlab (certificación ISO 17025).
 |

|  |
| --- |
| 10.4.- Procedimientos (Método operativo del estudio)*(Describe secuencial y cronológicamente todas las actividades que seguirá la investigación y deben ir de acuerdo con los objetivos específicos)*  |
| **OE1**: Determinar la presencia de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii,* Virus de Inmuodeficiencia Felina y Virus del Distemper Canino y de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felinaen tigrillos (*Leopardus pardalis*) mantenidos en cautiverio.**Actividad 1**: Identificar la población de tigrillos en cautiverio en las regiones costa, sierra y oriente de acuerdo a un censo suministrado por el Ministerio del Ambiente (MAE). Obtener permiso de investigación, coordinar las visitas a cada centro de tenencia de fauna, realizar las solicitudes según corresponda.**Actividad 2**: Realizar una encuesta epidemiológica a cada responsable del centro o zoológico donde se realizará el muestreo para identificar posibles factores de riesgo asociados con la presencia de las enfermedades a identificar.**Actividad 3**: Realizar contención física o química de cada animal a ser muestreado y realizar el examen físico y registrar en una ficha.**Actividad 4**: Tomar las muestras de sangre en tubo tapa roja para obtener suero, las muestras se tomarán por venopunción de las venas cefálica, safena o yugular, la cantidad a recopilar debe ser de 1 mililitro como mínimo. **Actividad 5**: Ejecutar las pruebas mediante kits de diagnóstico rápido o mediante técnicas de laboratorio adecuadas.**Actividad 6**: Recopilar y registrar los datos obtenidos de cada prueba diagnóstica en una base de datos en Excel.  |
| **OE2**: Evaluar los factores de riesgo de contagio de los tigrillos por estos agentes infecciosos en centros de cautiverio mediante encuesta epidemiológica.**Actividad 1**: Ordenar y registrar los datos obtenidos de cada encuesta epidemiológica en una base de datos en Excel. **Actividad 2**: Ordenar y registrar los datos obtenidos de la ficha clínica de cada individuo muestreado en una base de datos en Excel.**Actividad 3**: Registrar los datos obtenidos del examen clínico de cada individuo muestreado en una base de datos en Excel. |
| **OE3**: Examinar la relación entre la presencia de estas enfermedades infecciosas y los factores de riesgo de contagio de los tigrillos en centros de cautiverio. **Actividad 1**: Asociar los factores de riesgo encontrados con las enfermedades identificadas. |

|  |
| --- |
| 10.5.- Estandarización *(Solo si amerita: describa cómo los investigadores asegurarán que las mediciones sean precisas y exactas)* |
| Validación de la encuesta epidemiológica. Capacitación a las estudiantes participantes en el llenado de la encuesta previo a su utilización en campo.Capacitación del uso del kit de diagnóstico para *Toxoplama gondii* por parte del personal de laboratorio de AGROCALIDAD a las estudiantes participantes.Capacitación del uso de kit de diagnóstico rápido para FIV/FeLV por parte de las Docentes responsables del proyecto a las estudiantes participantes. |

|  |
| --- |
| 10.6.- Manejo de Datos(*Solo si aplica*: *Describa dónde se colectarán los datos física y electrónicamente. Mencionar software)*  |
| Las fichas clínicas de los tigrillos y las encuestas de los centros de cautiverio serán almacenadas en la Clínica Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria – UCE. La base de datos se realizará en Excel.  |

|  |
| --- |
| 10.7.- Análisis de Datos(*Describa detalladamente todos los análisis que realizará con los datos que obtenga en su investigación, esto sirve para preparar los resultados)*  |
| Se realizarán **tablas de frecuencia** para describir los resultados de las siguientes variables cualitativas: - Sexo, estado reproductivo, edad, origen de los tigrillos, convivencia en grupo, dieta, procedencia y método de conservación de la carne, la presencia de gatos ferales, aves silvestres y roedores- la presencia de anticuerpos dirigidos contra *Toxoplasma gondii*, Virus de la Inmunodeficiencia Felina, Virus del Distemper Canino y la presencia de antígenos dirigidos contra el Virus de la Leucemia Felina.Se realizarán **promedios** de las siguientes variables numéricas: tiempo de alojo en el centro, temperatura y tiempo de conservación de la carne, frecuencia de limpieza de las heces. Se realizará **Chi-cuadrado** para evaluar la correlación entre las variables presencia de anticuerpos contra las 4 enfermedades y las variables cualitativas descritas anteriormente.Se realizará **Test de Spearman** para evaluar la correlación entre las variables presencia de anticuerpos contra las 4 enfermedades y las variables numéricas descritas anteriormente.Se realizará **Odds Ratio** entre las variables dependientes y las independientes para ver la magnitud de la asociación de estas variables.  |

|  |
| --- |
| 10.8.- Consideraciones Éticas y Legales *(Solo si aplica: Redacción sobre: El respeto a la persona y a la comunidad que participa en el estudio. La Autonomía y voluntariedad en la consecución del Consentimiento informado. La Beneficencia del estudio para la persona, comunidad y país. La Confidencialidad. La Protección de la población vulnerable. Los Riesgos potenciales del estudio. Los Beneficios potenciales del estudio. Competencias éticas y experticia de cada uno de cada uno de los investigadores. Declaración de conflicto de intereses. En lo legal debe redactarse que la investigación está acorde a la legislación y normativa vigente nacional e internacional.*  |
| El presente estudio se realizará durante el chequeo anual de todos los tigrillos mantenidos en centros de cautiverio por parte del Ministerio del Ambiente (MAE), en el cual se tomará una muestra de sangre adicional a las que toma el MAE. Para cada una de las 4 enfermedades en estudio, el MAE nos ha concedido el permiso para el estudio. Al finalizar el estudio, se entregará un informe al MAE.En la medida de lo posible, se tratará de manipular a los animales mediante una contención física. Si fuera necesario realizar una contención química (sedación), se aplicará un protocolo anestésico específico para esta especie. Las encuestas serán realizadas por estudiantes egresados que realizan su proyecto de tesis. La toma de muestras y el examen físico será realizado por un médico veterinario, sea la Dra. Susana Gallo o el veterinario asignado por el MAE.Los datos obtenidos sobre el estado general de salud, la presencia de estas enfermedades infecciosas y los factores de riesgo nunca fueron reportados en el país. Declaramos no tener ningún conflicto de interés.  |

|  |
| --- |
| **11. BIBLIOGRAFÍA** (*Utilice normas APA o Vancouver)* |
| Avendaño, R., Barrueta, F., Soto-Fournier, S., Chavarría, M., Monge, O., Gutiérrez-Espeleta, G. A., & Chaves, A. (2016). Canine Distemper Virus in Wild Felids of Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases*, *52*(2), 373–377. http://doi.org/10.7589/2015-02-041Cañón-Francoa, W., Araújob, F., López, N., Jardimd, M., Keide, L., Dalla, C., . . . Gennarig, S. (2013). Toxoplasma gondii in free-ranging wild small felids from Brazil: Molecular detection and genotypic characterization. *Veterinary Parasitology, 197*, 462-469.Deem, S. L., Spelman, L. H., Yates, R. A., & Montali, R. J. (2000). Canine Distemper in Terrestrial Carnivores: A Review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *31*(4), 441–451. http://doi.org/10.2307/20096032Filoni, C., Catão-Dias, J. L., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2008). Retrovirus Infections and Brazilian Wild Felids. *Braz J Vet Pathol Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, *1*(2), 88–96. Retrieved from http://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2015/07/V.1-N.2-20-20881\_2009\_12\_30\_39\_19.pdfFiorello, C. V., Noss, A. J., Deem, S. L., Maffei, L., & Dubovi, E. J. (2007). Serosurvey of Small Carnivores in the Bolivian Chaco. *Journal of Wildlife Diseases*, *43*(3), 551–557. http://doi.org/10.7589/0090-3558-43.3.551Furtado, M., Filoni, C. (2008). Diseases and Their Role for Jaguar Conservation. Jaguar Conservation Fund. Pp 35.Gómez, R. (2014). Medicina de la Conservación, Ecología de las enfermedades y la Medicina Veterinaria. *CONEXAGRO, IV*(1), 51.Guynup, S. (2014). The Latest Threat to Siberian Tigers: Canine Distemper – National Geographic Society (blogs). Retrieved November 16, 2017, from http://voices.nationalgeographic.org/2014/11/30/the-latest-threat-to-siberian-tigers-canine-distemper/Mora, M. (2011). Pesquisa de infección con los Virus Inmunodeficiencia Viral Felina y Leucemia Viral Felina en Güiñas (Leopardus guigna) en la Isla de Chiloé. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Pp 4-5.Mora, M., Napolitano, C., Ortega, R., Poulin, E., Pizarro, J. (2015). Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus infection in free-ranging guignas (Leopardus guigna) and sympatric domestic cats in human perturbed landscapes on Chiloe Island, Chile. Journal of Wildlife Diseases. Vol.51, NO1. pp 199OIE. (2008). Toxoplasmosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres.Terio, K. A., & Craft, M. E. (2013). Canine Distemper Virus (CDV) in Another Big Cat: Should CDV Be Renamed Carnivore Distemper Virus? *mBio*, *4*(5). http://doi.org/10.1128/mBio.00702-13Tenter, A., Heckeroth, A., & Weiss, L. (2000). Toxoplasma gondii: from animals to humans. International Journal for Parasitology, 30, 1217-1258.Whiteman, C. W., Matushima, E. R., Cavalcanti Confalonieri, U. E., Palha, M. das D. C., da Silva, A. do S. L., & Monteiro, V. C. (2007). Human and domestic animal populations as a potential threat to wild carnivore conservation in a fragmented landscape from the Eastern Brazilian Amazon. *Biological Conservation*, *138*(1–2), 290–296. http://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.04.013 |

|  |
| --- |
| **12. RESULTADOS ESPERADOS** |
| R1: Titulación positiva para Toxoplasma gondii, FIV/FeLV y Distemper canino.R2: Identificación de factores de riesgo asociados a la presencia de las enfermedades. |

|  |
| --- |
| **13. PLAN DE PUBLICACIONES (máximo 500 palabras)***(Cómo va a difundir su investigación)* |
| Se espera publicar los resultados de este estudio como artículo científico en una revista internacional indexada de medicina de fauna silvestre o relacionada. Se podrá presentar el resumen de la presente investigación en congresos nacionales de medicina de fauna silvestre. |

|  |
| --- |
| **14. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES POR OBJETIVOS ESPECÍFICOS** *Se requiere descargar el archivo de Excel, guardarlo en su computador y llenar la información requerida; una vez guardado subir el archivo en la opción Cargar Cronograma* |

|  |
| --- |
| **15. PRESUPUESTO** *Se requiere descargar el archivo de Excel, guardarlo en su computador y llenar la información requerida; una vez guardado subir el archivo en la opción Cargar Presupuesto*Nota: el valor del presupuesto en ningún caso podrá exceder de 3.000,00 dólares en fondos de universidad; con fondos propios es indeterminado. |
| **15. ANEXOS (Adjunte)*****Anexo 1:******-*** *Formulario (s) de investigación (Es el formulario donde se registrarán los datos).**- Formulario (s) de encuesta (Debe incluir todas las preguntas que desea hacer)****Anexo 2:****Consentimiento informado: Solo si la investigación es en seres humanos, utilice los formatos del Subcomité de Ética de la Investigación en Seres humanos para mayores y/o menores de edad*.***Anexo 3:****Cartas de autorización (Solo si la investigación amerita, es la carta de autorización de los directivos de las instituciones en las que la investigación se realizará).****Anexo 4:****Conflicto de Intereses (Si hay entre los investigadores y casas comerciales, instituciones académicas).****Anexo 5:****Declaración de confidencialidad***.** |