

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Búsqueda intencional de *Brucella canis* en el criadero  
FARPA de la Cd. de Chihuahua, Chihuahua.”**

**TESIS POR:**

**KAREN MAGALY PARRA CASTILLO**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA**

**OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**NOVIEMBRE, 2013**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**"Búsqueda intencional de *Brucella canis* en el criadero FARPA de la Cd. de Chihuahua, Chihuahua."**

**TESIS POR:**

**KAREN MAGALY PARRA CASTILLO**

**ASESOR PRINCIPAL**

Una firma manuscrita en tinta que parece decir "Rascón Díaz".

**MVZ. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ**

**COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

Una firma manuscrita en tinta que parece decir "Rodrigo Isidro Simón Alonso".



**MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO**

**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**NOVIEMBRE, 2013**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**




**"Búsqueda intencional de *Brucella canis* en el criadero FARPA de la Cd. de Chihuahua, Chihuahua."**

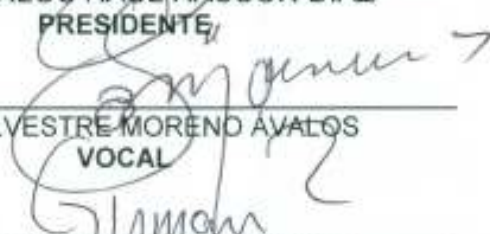
**TESIS POR:  
KAREN MAGALY PARRA CASTILLO**

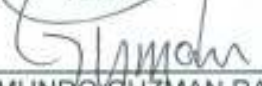
Elaborado bajo la supervisión del comité particular y aprobado como requisito parcial para optar por el título de:


**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**


**JURADO:**

  
\_\_\_\_\_  
MVZ. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ  
PRESIDENTE

  
\_\_\_\_\_  
MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS  
VOCAL

  
\_\_\_\_\_  
MVZ. EDMUNDO GUZMÁN RAMOS  
VOCAL

  
\_\_\_\_\_  
MVZ. GUAYTEMOC FÉLIX ZORRILLA  
VOCAL SUPLENTE

  
\_\_\_\_\_  
M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE, 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Búsqueda intencional de *Brucella canis* en el criadero FARPA de la Cd. de Chihuahua, Chihuahua.”**

**TESIS POR:**

**KAREN MAGALY PARRA CASTILLO**

**ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR  
DE ASESORÍA**

Una firma manuscrita en tinta negra que parece decir "Rascón Díaz".

---

**ASESOR PRINCIPAL  
MVZ. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**NOVIEMBRE, 2013**

## **AGRADECIMIENTOS**

Siempre y sobre todas las cosas quiero agradecerle a Dios por todo lo que me ha dado y por todas las pruebas que ha puesto en mi camino que hoy me permiten ser la persona que soy.

A mis padres por otorgarme los medios y las facilidades para lograr siempre mis metas y sueños, por siempre a pesar de los obstáculos haber creído y confiado en mí, por ser un ejemplo y una inspiración en mi vida.

A mi esposo que recorrió a mi lado todo este largo camino y por nunca haberme soltado de su mano.

A mi hija por ser el principal motivo para salir adelante, por ser la fuerza que me impulsaba día con día y la esperanza con la que despertaba cada mañana.

A mi mejor amiga por ser como de mi familia en esos momentos difíciles.

A mis asesores y maestros por compartir sus conocimientos conmigo.

## DEDICATORIA

A mis padres Ramona Castillo y José Parra.

A mis hermanas Sandy y Shaila Parra.

A mi esposo Moises Reyes.

A mi madrina Norma Castillo.

A mi hija Samara Reyes.

A mi amiga Lupita Uribe.

# INDICE

## Contenido

I.RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. HIPÓTESIS.....	3
IV.OBJETIVO.....	4
V. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Definición.....	5
Historia.....	5
Distribución geográfica.....	5
Etiología.....	5
Transmisión.....	6
Patogenia.....	7
Signos clínicos.....	7
En la perra.....	8
En el perro.....	9
Lesiones.....	9
Inmunidad.....	10
Diagnóstico.....	10
Diagnóstico bacteriológico.....	11
Características de cultivo.....	11
Diagnostico serológico.....	12
Pruebas de rutina.....	12
Pruebas confirmativas.....	13
Tratamiento.....	14
Prevención y control.....	15
Mascotas.....	16
Criaderos.....	16
Eliminación de animales infectados.....	17
Impacto en salud pública.....	18
La enfermedad en el humano.....	18

<b>Sintomatología</b> .....	19
<b>Prevención</b> .....	19
Diagnóstico.....	20
<b>Tratamiento</b> .....	20
<b>Materiales</b> .....	21
<b>Recursos de laboratorio:</b> .....	21
<b>Recursos de campo:</b> .....	21
<b>Recursos de tipo biológico:</b> .....	21
<b>Localización geográfica</b> .....	21
Métodos .....	22
<b>Procedimiento</b> .....	22
<b>Procedimiento para el 2-mercaptoetanol-prueba rápida de aglutinación en tarjeta (2ME-RSAT)</b> .....	23
<b>Análisis estadístico</b> .....	23
VII.RESULTADOS.....	24
VIII.DISCUSIÓN .....	26
IX. CONCLUSIONES.....	27
XI. LITERATURA CITADA.....	30



## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.- Caninos muestreados.....</b>	<b>24</b>
<b>Cuadro 2.- Resultados de las pruebas de rápida aglutinación.....</b>	<b>25</b>
<b>Cuadro 3.-Caninosseropositivos.....</b>	<b>26</b>

## I.RESUMEN

Este trabajo se realizo en los meses de Enero a Junio del año 2013 en el criadero FARPA de la Cd. de Chihuahua, Chihuahua; México. Se obtuvieron 11 muestras de sangre de caninos, 5 hembras y 6 machos de las razas BassetHound y Pastor Alemán, las cuales se analizaron con la prueba de rápida aglutinación **CanineBrucellosisAntibody Test Kit**.

El porcentaje de animales seropositivos fue de 0.82%; que es mucho menor al promedio obtenido en otros estudios anteriores.

En el presente estudio se encontró que se ha disminuido la incidencia de brucelosis canina en criaderos, debido a que se ha mejorado el manejo de los reproductores y los hábitos de higiene dentro del criadero.

**Palabras clave: Brucella canis, criadero FARPA, BrucellosisAntibody Test Kit, Incidencia, Aglutinación.**

## II. INTRODUCCIÓN

La Brucelosis canina es una enfermedad de carácter zoonótico de presentación clínica o subclínica que ocasiona aborto en las hembras caninas especialmente entre los 45- 55 días de la gestación. En los machos, las lesiones características corresponden a dermatitis escrotal, epididimitis, orquitis uni o bilateral, discoespondilitis y degeneración testicular (1). La transmisión de la bacteria es esencialmente venérea, aunque pueden existir otras vías de infección por estrecho contacto con animales infectados (2).

Los caninos se pueden infectar por cuatro de las seis especies de *Brucella* que hasta hace poco se habían identificado (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella canis*), aunque no se han comprobado las infecciones por *Brucella ovnis* y *Brucella neotomae*(2). Recientemente, el Comité Internacional de Sistemática de Procariotes, subcomité de taxonomía de *Brucella* incluyó tres nuevas especies, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis* y *Brucella microti*(3) que por ser recientemente descubiertas, no se tiene mayor información.

Las fuentes de infección de la *B. canis* para el humano son el contacto con fetos abortados y las secreciones vaginales o prepuciales, aunque el cuadro clínico es de menor gravedad que el ocasionado por las otras especies de *Brucella* (2). En los países en donde la prevalencia de la brucelosis es alta, la transmisión al humano ocurre con menor frecuencia (4).

El diagnóstico definitivo de *B. canis* en los humanos y los caninos es el cultivo, sin embargo, es difícil de realizar ya que la bacteria se elimina intermitentemente y no siempre se obtienen resultados (4), por tal razón se utilizan las pruebas serológicas, siendo una de las más utilizadas la aglutinación rápida en placa con o sin adición de 2 mercaptoetanol que utiliza una cepa menos mucoide (M-) de *B. canis* que reduce el número de reacciones cruzadas (5).

La brucelosis canina se ha convertido en un serio problema de salud pública en diversos países y ciudades del mundo, por la alta población de animales abandonados, los cuales conforman colonias y deambulan libremente sin control sanitario. La enfermedad se ha reportado en Canadá (6), Sur de los Estados Unidos (7), México (8), España (9) Alemania (10), Polonia (11), República Checa (12) e Italia (13). Igualmente, en Asia como en la India (14), Filipinas (15), Corea (16), China (17), Japón (18), Turquía (19), Malasia (20), Taiwán (21) y Nigeria (22). En Suramérica, Brasil (23), Argentina (24) y Chile (25).

En México la enfermedad se diagnosticó por primera vez en 1974, mediante el aislamiento de *B. canis* a partir de sangre de perros callejeros (26). Estos estudios revelaron que la infección se encuentra ampliamente difundida entre los perros callejeros de la Ciudad de México y su periferia, encontrándose que de 500 perros muestreados al azar 28% tenía títulos de anticuerpos aglutinantes en niveles de 1: 00 o superiores y en ocho de estos animales se logró aislar *B. canis* a partir de muestras de sangre

### III. HIPÓTESIS

Los animales utilizados como reproductores en el criadero FARPA se encuentran libres de *Brucella canis*.

Comprobar que los animales que se encuentran en el criadero Farpa de la Cd. de Chihuahua que son utilizados como reproductores de las razas bassethound y pastor alemán no presentan títulos de anticuerpos contra la bacteria *Brucella canis*.

#### IV.OBJETIVO

Recopilar la información más reciente con respecto a *Brucella canis* en cuanto a su transmisión, patogenia, signos clínicos, etc.

Analizar 11 muestras de sangre por medio de la prueba de rápida aglutinación **BrucellosisAntibody Test Kit**.

Detectar animales con presencia de anticuerpos contra *Brucella canis*

## V. REVISIÓN DE LITERATURA.

### Definición

La brucelosis canina es una antropozoonosis de distribución mundial de curso subagudo o crónico, caracterizada por una bacteremia de larga duración con presentación clínica o subclínica afectando principalmente los sistemas músculo esquelético y reproductivo, siendo la causa más común e importante de aborto infeccioso canino en criaderos, y en menor grado en mascotas. (21, 49)

### Historia

Su presencia fue detectada en el año de 1966 cuando Carmichael y Bruner confirman problemas de infertilidad y aborto en criaderos de raza Beagle de Estados Unidos; posteriormente se logra su aislamiento en 1968 a partir de tejidos fetales y descargas post-aborto. Los organismos aislados presentaron signos semejantes a los del género *Brucella*, siendo linfadenitis generalizada, aborto posterior a los 50 días de gestación y prolongada descarga vaginal después del mismo, los cuales se corroboraron posteriormente por estudios bacteriológicos y serológicos. (7, 12, 13, 16, 21, 22, 37)

Carmichael y Bruner proponen el nombre de *Brucella canis* y su inclusión dentro del género *Brucella* en el año de 1968, el cual fue aceptado por el subcomité de taxonomía en *Brucella* de la *International committee on systematics of Prokaryotes*-ICSP- publicado para su validez en la "Lista de aprobación de nombres bacterianos" en el año de 1980. En 1994 se clasificó al género como gérmenes de riesgo nivel III (originada por agentes patógenos de origen animal, causantes de enfermedad en humanos de difícil diagnóstico y sin protocolo de tratamiento) (21, 26, 35).

### Distribución geográfica

A pesar de que la enfermedad se considera de distribución mundial no se conoce su prevalencia en la mayoría de países, pero se ha encontrado prácticamente en todos los países en los que se ha investigado; reportándose en América, Japón, China, España, Italia, Alemania, Gran Bretaña, Francia, Madagascar. Las estimaciones provenientes del sur de EEUU y Japón indican un 7-8% en perros callejeros. (1, 16, 22, 26)

González et al. (2004) encontraron en un estudio realizado en la Universidad Autónoma de México un 42.8% de perros seropositivos tanto en animales con problemas reproductivos como de tipo asociado a brucelosis canina.

### Etiología

*Brucella canis* es una bacteria intracelular, Gram negativa, inmóvil, con forma filamentosa y un tamaño de 0.5 a 0.7  $\mu\text{m}$  por 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , cuya envoltura celular está compuesta por una membrana citoplasmática interna rodeada de la capa rígida de peptidoglicano y una membrana externa compuesta por fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridoendotóxico (LPS), compuesta a su vez únicamente por una parte lipídica. (16, 21, 30) Al igual que *Brucella abortus* carecen de la cadena "O" en el LPS, por lo que se clasifican como brucelas de "tipo rugoso". (22)

El LPS es el responsable de la reacción antígeno-anticuerpo, sin embargo, el LPS-R posee reacciones cruzadas con otras bacterias como *Actinobacillus equuli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas aeruginosa*, ciertas cepas de *Staphylococcus* y de *Pasteurella multocida*. (7, 26, 31, 39)

### **Transmisión**

*Brucella canis* posee un número limitado de huéspedes siendo las únicas especies infectadas en forma natural, el perro y los cánidos silvestres. (16, 25)

Las infecciones naturales ocurren más comúnmente después de la ingestión de materiales placentarios contaminados o de fetos abortados, descargas vaginales de perras infectadas que se encuentran en celo o que abortan, y durante el apareamiento. (1, 13, 16, 33, 37) Las secreciones al momento del aborto pueden contener hasta 1,010 microorganismos/ml, estimándose que la dosis infectiva mínima puede estar cercana a  $10^6$  microorganismos. (22, 25)

En los machos que presentan lesiones testiculares, los fluidos seminales o prostáticos actúan como contaminantes de la orina a partir de la tercera a onceava semana después de iniciada la infección, llegando a contener hasta  $10^3$  a  $10^6$  microorganismos/ml. También se ha aislado en raras ocasiones a partir de leche proveniente de perras infectadas, por lo que no se descarta esta vía de transmisión. (16, 22, 25, 33)

La contaminación iatrogénica se da por transfusiones sanguíneas y uso de equipo contaminado (endoscopio vaginal, equipo de inseminación artificial y cirugía) el cual en condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y ausencia de luz solar, puede esparcir al microorganismo. (26, 33)

En estudios de laboratorio realizados por Carmichael y Kenney (1968) probaron exitosamente la vía intravenosa, subcutánea, oral, conjuntival, intravaginal y por contacto, como vía de transmisión para *Brucella canis*. La dosis de inoculación usada fue de aproximadamente  $10^6$  organismos, excepto en la transmisión por contacto, en donde los perros fueron expuestos a perras que habían abortado recientemente.

Carmichael y Kenney (1968) demostraron la transmisión vertical de *Brucella canis*; en dos instancias perras infectadas parieron cachorros normales a simple vista y otros débiles. Los cachorros de una de las perras presentaron bacteremia a la semana de edad; tres de cinco cachorros de la otra perra murieron a los dos días de edad y la bacteria fue aislada a partir de sangre y órganos internos, los cachorros que sobrevivieron estaban normales pero permanecieron bacterémicos hasta el cuarto mes en que fueron sacrificados.

## **Patogenia**

Independientemente de la puerta de entrada, los linfocitos, las células plasmáticas y las células reticulares son las principales células afectadas, siendo la reacción tisular básica la hiperplasia de células reticulares de los órganos linfoides y la consecuente formación de granulomas en órganos como nódulos linfáticos, bazo, hígado, útero, glándula mamaria, testículos, próstata, vesículas seminales y médula ósea. (13, 21, 22)

El macrófago es la célula encargada de fagocitar a las bacterias pero ella misma se encarga de transportarlas a los órganos genitales y nódulos linfáticos regionales: retrofaríngeos si la ruta de entrada fue oral e inguinales e iliacos si fue genital, en donde se adaptan al ambiente ácido y persisten a nivel intracelular, principalmente en el retículo endoplásmico rugoso. Se produce una linfadenopatía seguida por una bacteremia que empieza aproximadamente entre la 1er y 3er semana post-infección, y que puede ser detectable de dos a cuatro semanas post-infección y puede durar entre 6 a 64 semanas. (8, 13, 22, 23, 25, 31, 33)

Carmichael en un estudio realizado en 1970, reporta que de un grupo de 12 caninos, 6 de ellos persistieron bacterémicos 12 meses después de la inoculación oral con *Brucella canis*.

Los microorganismos probablemente invaden al feto vía placenta, sin embargo, la alta concentración de bacterias en los fluidos amnióticos y la presencia de leucocitos en el lumen de estómago e intestinos de los fetos abortados, sugiere que la infección fetal ocurre como resultado de la ingestión de fluido amniótico, la cual finalmente produce el aborto. (13)

En perras que han abortado, las brucelas han estado presentes en grandes cantidades en las descargas vaginales (uterinas), y como se ha mencionado, las descargas vaginales continúan por varias semanas, siendo éste material excretado la fuente más común de transmisión hacia otros animales. (13)

## **Signos clínicos**



A pesar de la infección sistémica, los perros adultos rara vez desarrollan enfermedad grave debido a la virulencia relativamente reducida de *Brucella canis*, considerándose más su mortalidad perinatal, y que aunado a la inespecificidad de los signos clínicos se dificulta su diagnóstico a partir de ellos. (1, 22, 25, 37, 51)

En caninos es una causa importante de problemas reproductivos en todas las razas y edades, causando anestro, muerte embrionaria, aborto, prostatitis y atrofia testicular entre otros signos, evolucionando hasta la incapacidad reproductiva de machos y hembras; igualmente se asocia con pérdidas económicas importantes a nivel de criaderos principalmente por la “tormenta” de abortos, en donde los individuos portadores actúan como agentes diseminadores de la enfermedad. (7, 12, 13, 21, 37, 39, 49)

Los signos no específicos incluyen letargia, pérdida de líbido, envejecimiento prematuro, pérdida de brillo y sequedad del pelaje, cambios en comportamiento como indiferencia al medio, anorexia; y por ser una enfermedad insidiosa, los signos clínicos no son los adecuados para establecer el diagnóstico, sobre todo en animales prepúberes y no gestantes, dependiendo más de pruebas serológicas y aislamiento bacteriológico. (1, 16, 21, 33, 37)

No se ha observado pirexia, incluso cuando se han inoculado grandes cantidades de microorganismos a nivel parenteral ( $10^{10}$  microorganismos). (13)

### **En la perra**

En las hembras no gestantes la enfermedad es clínicamente inaparente, siendo casi el único signo el aborto, que ocurre en un 75% entre los días 45 y 55 de gestación, además de parir cachorros muertos o débiles que mueren en las primeras 24 a 48 horas, sin embargo, cachorros infectados *in útero* pueden sobrevivir y desarrollar hipertrofia de nódulos linfáticos como único signo de enfermedad. (1, 12, 13, 16, 25, 30, 37, 49)

El aborto o la muerte embrionaria pueden ocurrir repetidamente o presentarse partos y camadas aparentemente normales después de un aborto. No existen diferencias en cuanto a susceptibilidad por edades en hembras, ya que el aborto ocurre tanto en perras jóvenes (1 año) como adultas (10 años), presentándose con mayor frecuencia entre los 2 y 4 años, correspondiendo a la edad óptima de reproducción. (1, 13, 16, 21, 22, 26, 33, 37, 38, 51)

Las descargas vaginales fétidas persistentes son un hallazgo común y duran entre 1 y 6 semanas, variando en cantidad, color y consistencia; pudiendo llegar a tener

una carga viable de microorganismos de  $10^{10}$  /ml. (7, 8, 12, 13, 21, 33, 37, 49, 51)  
No se ha observado retención placentaria. (22, 26)

### **En el perro**

En el macho el principal signo es la epididimitis de uno o ambos testículos, e infertilidad. También se puede encontrar prostatitis, orquitis, dermatitis y edema a nivel escrotal. Existe hipertrofia y tumefacción del epidídimo seguido de atrofia testicular, siendo hallazgos comunes en perros naturalmente infectados o experimentalmente inoculados. Las reacciones escrotales se hacen manifiestas de 3 a 5 semanas post-infección, evidenciándose dolor a la palpación testicular y epididimal, siguiendo un curso degenerativo y atrófico a nivel testicular (uni o bilateral). (1, 7, 8, 13, 16, 21, 22, 25, 26, 33, 37, 38, 39, 51)

En México, González et al. (2004) determinaron que los principales problemas reproductivos en perros seropositivos a *Brucella canis* son epididimitis, orquitis y en menor proporción degeneración testicular, infertilidad y dermatitis escrotal. El principal signo no relacionado con problemas reproductivos es la discoespondilitis y en menor proporción la uveítis anterior y artritis.

Algunos perros con atrofia testicular son fértiles, otros manifiestan disminución del libido en grado variable y en caso de atrofia testicular bilateral, generalmente son estériles. (21, 33) Debido a que al momento del daño testicular por *Brucella canis*, existe liberación de autoantígenos desarrollados durante la vida fetal que son percibidos como extraños por el sistema inmune del adulto, se produce una enfermedad autoinmune con el consecuente desarrollo de orquitis, encontrándose a nivel sanguíneo, autoanticuerpos contra los espermatozoides los que estimulan a su vez, la producción de autoanticuerpos tipo IgG o IgA, causantes de la aglutinación e inmovilización de los espermatozoides, produciendo finalmente la infertilidad en el macho. (8, 16, 52)

En un estudio realizado en México, Flores-Castro y Segura (1975) infectaron a 4 perros con una suspensión intravenosa de *Brucella canis*, los cuales presentaron signos clínicos de la enfermedad entre las 5ta y 6ta semana, consistiendo en orquitis bilateral y epididimitis.

### **Lesiones**

El hallazgo macroscópico más constante es la hiperplasia de nódulos linfáticos. En la necropsia se encuentran hallazgos anormales como edema, hiperemia y hemorragias en el área subcutánea del abdomen. Microscópicamente se puede encontrar infiltrado mononuclear en cualquier órgano donde el microorganismo haya colonizado. (22) A nivel testicular las lesiones corresponden a prostatitis,

atrofia testicular y epididimitis intersticial, que puede llegar a fibrosis, pero a diferencia de la brucelosis de otras especies, los conductos no suelen obliterarse ni estrecharse. En casos crónicos se observa hipertrofia del epidídimo, especialmente a nivel distal. (37)

Cuando ocurre aborto se observa placentitis necrótica focal y vasculitis necrotizante en próstata, escroto, prepucio y vulva. (22, 25, 37)

## **Inmunidad**

La infección induce respuestas inmunes principalmente mediadas por células y que dependen de la activación de los macrófagos, las cuales varían por factores tales como patogenicidad de la cepa infectante, edad, estado nutricional, tratamientos previos con antibióticos y estado inmune del huésped. (21)

La mayor actividad que ejercen los macrófagos para eliminar a la bacteria se debe a un tipo de interleucina, la linfoquina, que es liberada por los Linfocitos T específicos, una vez que son reconocidos por el antígeno bacteriano y los componentes del complejo mayor de histocompatibilidad en la superficie del macrófago. (21)

## **Diagnóstico**

A pesar del mejoramiento de los métodos de diagnóstico, el más preciso y definitivo está representado por el cultivo y aislamiento de la bacteria, sin embargo, ninguna técnica de laboratorio se encuentra estandarizada, siendo la serología el método más usado por su facilidad en la obtención de resultados y su costo; a pesar de la obtención de resultados falsos positivos debido a la reacción cruzada entre varias especies de bacterias con el antígeno lipopolisacárido (LPS) de *Brucella canis*. (7, 13, 16, 21, 25, 26, 51)

Los valores hematológicos y bioquímicos no están alterados o son inespecíficos, siendo la hiperglobulinemia con hipoalbuminemia concomitante el hallazgo más constante en casos crónicos. (25)

Independientemente del método a utilizar se deben de catalogar los casos clínicos como casos sospechosos para machos con orquitis y/o epididimitis, hembras que abortan dos semanas antes de término y fallas en el apareamiento; y casos confirmados en caso de manifestaciones clínicas compatibles con cultivo positivo o serología positiva. (51)

## **Diagnóstico bacteriológico**

El cultivo es el único método diagnóstico definitivo para resolver las diferencias serológicas, siendo la sangre la mejor fuente para aislar el microorganismo, utilizándose sangre con anticoagulante, como heparina y citrato, y no con EDTA ya que inhibe el crecimiento de *Brucella canis*. (12, 25, 26, 38, 51)

La presencia del microorganismo en sangre se puede detectar a partir de la tercera a cuarta semana post-infección y puede durar hasta 1 año o más en el 80% a 100% de los animales, presentándose de una forma intermitente e incluso los animales crónicos pueden llegar a ser persistentemente no bacterémicos. El hemocultivo permite el diagnóstico de infecciones tempranas, teniendo en cuenta que en las primeras 4 semanas post-infección las pruebas serológicas y los cultivos de semen y orina son aún negativos. (22, 39)

Los tejidos ideales para el aislamiento son hígado, bazo, próstata, nódulos linfáticos, orina y las descargas vaginales; y con menos frecuencia se reportan aislamientos a partir de semen, leche y calostro. Tejidos placentarios y fetales poseen alta concentración del microorganismo tales como pulmón, bazo, hígado, nódulos linfáticos, sangre y principalmente estómago e intestinos, sugiriendo que la infección fetal puede ocurrir por la ingesta de fluido amniótico. (7, 16, 21, 25, 33, 47)

Los hisopados vaginales son útiles únicamente cuando existe descarga vaginal. A partir de semen se tiene la mayor sensibilidad entre la tercera y sexta semana post-infección, ya que a partir de ese período el número de microorganismos empieza a disminuir hasta llegar a la semana sesenta donde el resultado será negativo aún cuando el animal continúe infectado, sin embargo, el éxito de aislamiento a partir de la eyaculación manual no es muy exitoso. (7, 8, 22)

El éxito del aislamiento depende de la viabilidad del microorganismo y de la fase de infección, por lo que un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección, debiéndose hacer una colecta de 3 muestras consecutivas con al menos 24 horas de intervalo. (33, 39)

## **Características de cultivo**

El crecimiento óptimo se da en medios como Agar Brucella, Agar Triptosaó Soya Tripticasa con ambiente aerobio ya que el CO<sub>2</sub> es inhibitorio para la bacteria, formando colonias pequeñas. (7, 22) Dicho crecimiento se logra a 37°C y a las 36-48 horas ya son visibles las colonias cambiando a altamente mucoides entre los siguientes 5 a 7 días, las cuales poseen un tamaño de 1 a 1.5 mm. (7)

No crece en medios selectivos como el Agar McConkey, ya que la membrana externa de la bacteria no la protege contra los agentes hidrófobos contenidos en dichos medios, tales como sales biliares, detergentes o ciertos colorantes. (26)

### **Diagnostico serológico**

Debido a que *Brucella canis* y *Brucella abortus* encuentran en fase rugosa privadas de la cadena "O" del antígeno superficial lipopolisacárido –LPS– que caracteriza a las brucelas en fase lisa (*Brucella abortus*, *Brucella suis* y *Brucella melitensis*) se debe contar con el antígeno específico ya que no posee reacción cruzada con ellas, lo que junto al limitado impacto económico y zoonótico que posee en relación a otras brucelas, son pocas las pruebas que se han desarrollado. (1, 8)

La infección por *Brucella canis* produce anticuerpos que son detectables por pruebas serológicas a partir de la octava semana post-infección, debido a que la primera fase de la respuesta inmune predomina la IgM que va siendo paulatinamente superada por la IgG, la que es característica de enfermedad crónica. (22)

Los títulos aglutinantes en el humor acuoso son superiores a los del suero. (37)  
Los títulos serológicos son bajos cuando los cultivos sanguíneos son negativos. (49)  
Tratamiento previo con antibióticos puede producir resultados falsos negativos. (25)

Las pruebas serológicas más comunes que se realizan a nivel mundial son la prueba de aglutinación rápida en placa y la prueba de aglutinación en tubo. (21, 22)

### **Pruebas de rutina**

- Prueba de aglutinación rápida en placa – PARP –  
(Rapid slide agglutination test – RSAT–)

La fórmula original de esta prueba usa como antígeno a *Brucella abortus*. Se utiliza un antígeno concentrado para pruebas en placas o láminas, usado a gran escala en la mayoría de países del mundo debido a su ventaja de ser rápida, sencilla y económica, lo que permite su uso masivo. (16, 22)

- Prueba de aglutinación rápida en placa 2-Mercaptoetanol – PARP-ME –  
(2-ME Rapid slide agglutination test – 2-ME RSAT –)

Esta prueba puede usar tanto antígeno de pared celular de *Brucella canis* como de *Brucella abortus* para la brucelosis canina, ya que este último reacciona en forma cruzada con el antígeno lipopolisacárido (LPS) de *Brucella canis*. Actualmente se usa antígeno *Brucella canis*, aumentando la especificidad. (16)

Es una prueba rápida, fácil y muy sensible reportándose un 1% de falsos negativos. Nos proporciona resultados positivos a las 5-8 semanas post-infección hasta que el animal ya no posee bacteremia. La reacción positiva es particularmente significativa cuando existen signos clínicos de la enfermedad. (16, 22)

La prueba con 2-Mercaptoetanol es selectiva detectando únicamente la presencia de IgG, aumentando con ello la especificidad de la prueba, ya que en las etapas tempranas de enfermedad predominan los anticuerpos IgM que son sensibles a la destrucción por el 2-ME, convirtiéndolos a subunidades debido a la reducción de los enlaces disulfuro por parte del radical tilo. Se debe tener en cuenta que al inicio de la infección solo se originan anticuerpos IgM, por lo que la prueba con 2-ME puede ser negativa. (16, 21, 22, 26)

En varios estudios el mayor porcentaje de resultados positivos corresponde a esta prueba frente a las demás utilizadas de forma rutinaria, aunque la persistencia de falsos positivos ha sido evidente por medio de todos los métodos utilizados. (21, 22) Los sueros con resultados positivos se recomiendan evaluarlos con AGID ó ELISA. (16)

- Seroaglutinación en tubo – SAT –
- (Tubeaglutination test – TAT –)

Es el método más antiguo que se realiza. Se ha mantenido como prueba básica en los programas de control y erradicación debido a su fácil ejecución y los resultados uniformes obtenidos, economía y estandarización a nivel internacional. Sus inconvenientes son la de falta de sensibilidad en casos tempranos de enfermedad y la interpretación en caso de títulos aglutinantes bajos. Puede dar resultados negativos en las primeras etapas de infección y en infecciones crónicas. (16, 21, 22)

En Turquía, Akan y Sareyyüpoğlu (2000) demostraron que al usar 2-Mercaptoetanol en la prueba de aglutinación en tubo (TAT) eliminó en 39.1% los falsos positivos de dicha prueba, además de encontrar una similitud en 96.42% entre los resultados obtenidos con 2-Mercaptoetanol y ELISA.

### **Pruebas confirmativas**

- E.L.I.S.A. (Enzyme Linked Immunosorbent Assays)

Prueba que utiliza antígeno de pared celular que permite cuantificar los anticuerpos específicos IgM, IgG e IgA, siendo muy específica pero menos sensible que la seroaglutinación en tubo. Tiene elevado costo y su falta de estandarización en cuanto al tipo de antígeno hace difícil comparar los resultados de un laboratorio con otro, eliminando la posibilidad de discernir entre curación y evolución a cronicidad. (16, 22)

En estudios realizados por Hortnitzky y Cerrazón (1986) determinaron que la prueba es sensible y específica, y al compararla con PARP-ME y seroaglutinación en tubo, obtuvieron que ELISA es la más específica con un 95% de efectividad.

- PCR (Polymerasechainreaction)

Es un método *in vitro* que sintetiza secuencias definidas de enzimas de DNA, siendo rápido, sensible y específico para la identificación, ya que sintetiza *in vitro* secuencias específicas de DNA bacteriano. (22)

El PCR es útil para muestras de sangre, suero, leche y semen. En efecto la sangre es ideal para detectar la infección debido a la prolongada bacteremia característica de *Brucella canis*. (38)

En algunos trabajos se menciona ser de alta sensibilidad (100%) y especificidad (98.5%), de fácil y rápida ejecución, no obstante la interferencia de algunos elementos hemáticos se ha considerado un factor limitante de su sensibilidad. (20, 22)

- Inmunodifusión en Agar Gel (AGID, Agar gel inmunodifusión test)

Esta prueba usa antígeno de pared celular y todavía esta sujeta a falsos positivos. Cuando se utiliza proteína altamente específica se obtiene alta sensibilidad en detectar la infección. (16, 22)

Los anticuerpos pueden ser detectados de 1 a 2 semanas más temprano que con PARP-ME pero tiene dificultad en la interpretación de resultados y las reacciones de precipitación no específicas son bastante comunes. (16, 22)

- Fijación del complemento

Considerada como la más específica pero resulta muy laboriosa, complicada e intervienen muchos factores; además no se encuentra estandarizada a nivel mundial. (1)

## Tratamiento

Dada la ubicación intracelular de *Brucella canis*, la mayoría de autores coinciden en considerar poco efectivo el tratamiento debido al riesgo de infección crónica y posibles complicaciones. (8, 16, 20, 21, 25, 26, 33)

Se ha demostrado que *Brucella canis in vitro* es sensible a sulfonamidas, tetraciclinas, penicilinas, aminoglucósidos, macrólidos y particularmente sensible a penicilina-estreptomicina; sin embargo, *in vivo*, si bien es cierto que la bacteremia desaparece durante la administración de la terapia antibiótica, ésta reaparece una vez terminado el tratamiento. (16, 21, 26)

El tratamiento debe realizarse con un régimen de fármacos combinados donde se requiere que uno de los antibióticos tenga un grado adecuado de penetración celular, ya que ayudan a acortar el curso de la enfermedad, a disminuir la morbilidad y la incidencia de complicaciones; obteniéndose mejores resultados si la terapia empieza en etapas tempranas de la enfermedad, reportando Carmichael y Shin (1999) tasas de más del 80% de curación en criaderos, en donde los perros inicialmente diagnosticados como infectados eran sacrificados y los casos “tempranos” fueron tratados, aunque en general el tratamiento no está recomendado para perros de cría o cuando un seguimiento a largo plazo (3 meses) es improbable. (21, 22, 25)

Las fallas en el tratamiento son especialmente comunes en los machos infectados debido a que la bacteria se aloja a nivel de próstata y epidídimo. (16)

### **Prevención y control**

Debido a la importancia económica de la enfermedad en criaderos por la pérdida de la capacidad reproductiva y el potencial zoonótico, se han hecho intentos por desarrollar una bacterina convincente que induzca inmunidad sin provocar respuesta serológica que interfiera con el diagnóstico, pero no se ha tenido éxito. (7, 8, 16, 30)

Los resultados obtenidos por Carmichael (1970), usando bacterinas de *Brucella canis* inactivadas con calor y formalina, no sugirieron inmunidad satisfactoria después de haber aplicado dos inoculaciones de bacterias suspendidas en solución salina ó bacterias suspendidas en mezclas de fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio ó gel de alginato de calcio. Las únicas bacterinas que estimularon la inmunidad fueron aquellas que consistían en organismos emulsificados con el adyuvante tipo Freund (emulsión de agua en aceite mineral). En muchas instancias los perros fueron considerados “inmunes”. (13)

En un estudio realizado por Carmichael (1970) con perros en diferentes estados reproductivos usando bacterinas atenuadas de *Brucella canis* variante SM (smooth-mucoid), no causaron el aborto de una perra que fue inoculada vía subcutánea con  $10^9$  organismos a los 30 días de gestación, naciendo los cachorros abacterémicos, aunque adquirieron bajos niveles de anticuerpos maternos, sin embargo, la perra desarrolló bacteremia que persistió durante 4 meses, así mismo, dos perros fueron inoculados vía intravenosa con  $6 \times 10^6$  organismos, los cuales no desarrollaron signos de epididimitis u orquitis durante un periodo de observación de 3 a 4 meses, observándose únicamente agrandamiento de nódulos linfáticos en forma moderada.



Actualmente el desarrollo de bacterinas está considerado como indeseable ya que las estudiadas confirieron sólo una moderada protección y los perros vacunados desarrollaron anticuerpos que confundieron el serodiagnóstico, por lo que la prevención de la infección y eliminación de perros infectados sigue siendo la principal estrategia de control en criaderos. (13, 16, 30)

## **Mascotas**

La decisión de tratar o de sacrificar al animal infectado, dependerá directamente del tipo de lesiones que tenga, cuidados de los propietarios para disminuir los riesgos de transmisión, seguimiento serológico que se le pueda llevar y la cronicidad de la enfermedad. Si se elige el tratamiento con terapia antibiótica, el animal deberá ser castrado y seguir el tratamiento con antibióticos, ya que así se reduce el riesgo de transmisión, no obstante, esta hipótesis no se ha comprobado experimentalmente y la castración no elimina a los microorganismos del organismo. (16, 22)

## **Criaderos**

Entendemos como criadero al *lugar físico especializado en criar animales que poseen descendencia fenotípica y genotípica de alta calidad en base a los estándares ideales de cada raza en particular, buscando siempre, la excelencia de sus ejemplares*. Debido a ello sólo deben adquirirse animales que provengan de criaderos declarados libres de brucelosis canina, requiriendo para ello, de pruebas serológicas anuales de todos los reproductores y el control serológico de todos los perros a introducirse en el criadero. Solamente animales comprobadamente no infectados deben destinarse a la reproducción. En EEUU las hembras en reproducción son comúnmente monitoreadas serológicamente antes del celo por la técnica RSAT. (16, 22, 33, 49)

Dos pruebas serológicas con 4 a 6 semanas de intervalo deben requerirse a todos los perros antes de introducirlos a un criadero. Las dos pruebas detectarán a perros que podrían estar incubando la enfermedad. Si una hembra aborta, deberá asumirse infección hasta que sea demostrado lo contrario. Las hembras que abortan deben ser aisladas y las perreras desinfectadas. Si el macho pierde interés por la monta o desarrolla anomalías testiculares o disminuye su fertilidad, deberá ser examinado para descartar brucelosis. (16, 22)

El tratamiento no se recomienda para perros de criaderos y donde los perros no puedan ser aislados y monitoreados con precisión después de la terapia con antibióticos. El tratamiento es caro por su larga duración y la curación difícil de lograr, especialmente en los machos crónicamente infectados por lo que cuando aparezca un animal positivo, no se recomienda el tratamiento sino su eliminación inmediata para reducir el contacto con secreciones infectadas, además de la evaluación serológica de todos los animales con intervalos de 8 a 12 semanas, ya

que los perros portadores son los causantes de mantener la enfermedad. La supervivencia del microorganismo fuera del huésped es corta principalmente si la temperatura ambiental excede los 15°C. (21, 22, 33)

Se requieren cultivos de sangre repetidos y monitoreos serológicos por lo menos durante 3 meses post-tratamiento antes de que un perro pueda ser declarado negativo. La aparición de la infección después del cese del tratamiento con antibióticos es común, incluso si el microorganismo fue eliminado exitosamente. (16)

Las pruebas diagnósticas y la eliminación de los perros infectados son los únicos métodos comprobados para la erradicación de *Brucella canis* en criaderos infectados. Se debe intentar identificar la fuente de infección, desafortunadamente esto es raro debido a la renuencia de los criadores a admitir su culpabilidad. (16)

Los Médicos Veterinarios deben estar preparados para responder a las preocupaciones de los propietarios y para dar consejos, los cuales podrían variar de acuerdo a las circunstancias. La prevención es esencial para evitar el cuadro de infección en un criadero. Tan pronto como la brucelosis es detectada en un criadero, se deben implementar medidas rigurosas hasta que la enfermedad sea erradicada. Los criaderos infectados deben entrar en cuarentena aunque no hay regulaciones formales en la mayoría de países, lo que ha ayudado a una dispersión incluso a nivel internacional de la enfermedad. (16)

Se requiere de procedimientos adecuados de desinfección con hipoclorito de sodio al 1%, etanol al 70%, formaldehído, y compuestos de amonio cuaternario. (21, 33)

La cuarentena estricta, pruebas de laboratorio y la eutanasia de los animales infectados son los métodos necesarios para eliminar y prevenir el avance de la enfermedad cuando ésta es detectada en criaderos. Durante la cuarentena, cada animal debe ser mantenido en espacios separados para evitar la diseminación. La eutanasia de animales sospechosos es la segunda opción para minimizar el tiempo de infección. (33)

Resultados seropositivos en criaderos se relacionan con la ausencia de un programa de control para brucelosis canina y de registros reproductivos adecuados. (16, 22)

### **Eliminación de animales infectados**

En los criaderos, es causante de grandes pérdidas económicas ya que si la enfermedad no es identificada rápidamente puede extenderse entre las demás hembras, llegando al 80% de casos de abortos, además de cierta inhabilidad para concebir perras infectadas catalogadas como infértiles, lo cual se relaciona con reabsorción embrionaria temprana hasta el día 45 de gestación sin signos externos llamativos. (13, 22, 25, 26) En criaderos afectados se ha observado una

reducción de hasta 75% en el número de perros destetados con éxito, reduciendo con ello el porcentaje de cachorros por hembra por año. (33)

El único método eficaz comprobado para el control de la enfermedad es la identificación de los perros infectados a través de estudios serológicos, aislamiento de la bacteria y eutanasia de los caninos. (21, 49)

### **Impacto en salud pública**

El hombre es susceptible a la infección de *Brucella canis* aunque en menor grado que a otras especies del género. Aunque se considera que la infección humana es poco frecuente incluso en países donde existe alta prevalencia en caninos, se evidencia su implicación zoonótica reportándose en 1967 el primer caso a nivel mundial, por lo que la Organización Mundial de la Salud –OMS– la clasificó de reporte obligatorio dentro de la categoría de enfermedades infecciosas de origen bacteriano relacionadas con salud ocupacional y de tipo profesional de notificación inmediata, y posteriormente la catalogaron como enfermedad de riesgo biológico nivel III. (1, 8, 16, 21)

### **La enfermedad en el humano**

En humanos, la entidad se origina por contacto directo con caninos infectados a través de membranas mucosas, contaminación percutánea, accidentes biológicos o exposición accidental, produciéndose una entidad de carácter súbito y sintomatología inespecífica que hace difícil su diagnóstico y en el cual no desempeña ningún papel en el mantenimiento de la enfermedad en la naturaleza. (21)

Las personas con más riesgo son aquellas directamente vinculadas con el cuidado de animales en criaderos debido a la exposición con tejidos y fluidos reproductivos, considerándose una enfermedad de tipo ocupacional, principalmente en el rango entre 25-55 años, considerado el periodo de mayor actividad laboral; además de Médicos Veterinarios y personal de laboratorio. (8, 21, 22, 33)

La información existente sobre prevalencia e incidencia a nivel mundial es escasa y desde su aislamiento, investigadores de diversos países han confirmado su presencia, confirmándose su distribución mundial. (21)

Estudios realizados por Monroe et al. (1975) para determinar la prevalencia de anticuerpos en 4 grupos específicos de personas basados en la probabilidad de exposición, encontró que el 5.7% de recién nacidos poseían anticuerpos contra *Brucella canis*; el grupo con cierta probabilidad de exposición consistente en personas hospitalizadas, no hospitalizadas, trabajadores de hospitales y donadores de sangre, poseían un 67.8% de prevalencia; el grupo de alta exposición consistente en Médicos Veterinarios activos, obtuvo la segunda

prevalencia más alta, siendo de 72.6% y el último grupo consistente en personas con fiebre de origen desconocido, obtuvieron la prevalencia más alta del estudio, siendo de 80.5%.

En un estudio realizado por Flores-Castro y Segura (1975) en México, en el cual evaluó 203 muestras de sueros provenientes de diferentes hospitales y laboratorios clínicos del país, encontró que el 13.3% (27) de las muestras poseían títulos iguales o superiores de 1:100. Carmichael (1976) reporta que entre el descubrimiento de la bacteria en 1966 hasta el año de 1976, habían sido reportados 15 casos de *Brucella canis* en humanos, de los cuales, 8 eran en personal de laboratorio o técnicos animales, 5 en personas asociadas con mascotas y 2 en personas donde la fuente de infección nunca se supo. Las historias de todos los pacientes variaban considerablemente, pero la enfermedad fue relativamente leve en comparación con brucelosis humana causada por las especies clásicas de *Brucella*.

### **Sintomatología**

Con un período de incubación de 2 semanas a varios meses, los síntomas son leves y escasos en comparación a otras brucelas, incluyendo linfadenopatías a nivel cervical e inguinal, esplenomegalia, afecciones en bazo, hígado, nódulos linfáticos y con mayor frecuencia en médula ósea, huesos y articulaciones, sin embargo, la fiebre ondulante no es característica de la enfermedad. (21, 22, 26, 33)

Las complicaciones más comunes son las osteoarticulares, tales como espondilitis, discoespondilitis, osteomielitis y abscesos paravertebrales, proporcionando el síntoma inicial más común: dolor de espalda. Otras complicaciones menos frecuentes son meningitis, mielitis y rigidez de nuca. (21, 26)

En órganos del sistema reproductivo lo más común es una epidídimo-orquitis unilateral con evidencia de dolor y tumefacción, además de prostatitis. El tejido placentario humano contiene una cantidad mínima o nula de eritritol, por lo que la incidencia de aborto en humanos es mínima, aunque puede ocurrir debido a la toxicidad sistémica de la bacteria. (21)

La muerte es poco común pero la mayor causa es la insuficiencia cardíaca. (21)

### **Prevención**

Radica principalmente en el control de la enfermedad en el canino, recomendándose la eutanasia en animales infectados para reducir la incidencia de la enfermedad y el riesgo de contagio, principalmente en personas inmunocomprometidas (HIV positivas, pacientes con cáncer ó con trasplante de órganos). (21)

## **Diagnóstico**

En el humano, al igual que en los caninos, el diagnóstico de laboratorio es la única forma de confirmar la enfermedad, y por la inespecificidad de los síntomas clínicos, adquiere más importancia la historia epidemiológica. Puede realizarse aislamiento a partir de sangre o médula ósea en un 20% a 30% de los casos por lo que la demostración de anticuerpos se convierte en la forma predilecta de diagnóstico. (21)

## **Tratamiento**

Al igual que en caninos, para su éxito se requiere de la combinación de fármacos para reducir las recurrencias luego del tratamiento con un solo fármaco, reportadas hasta en un 40% de los casos, recomendándose en la actualidad combinaciones de doxiciclina y estreptomina, doxiciclina y rifampicina, y doxiciclina, rifampicina y trimetropinsulfametoxazol. (21, 25)

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

#### **Recursos humanos:**

- Investigador interesado.
- Asesores de la presente investigación.

#### **Recursos de laboratorio:**

- Gradillas de plástico.
- Refrigeradora.
- Tubos de ensayo.

#### **Recursos de campo:**

- Criadero canino FARPA ubicado en la Cd. de Chihuahua, Chihuahua
- 11 tubos de ensayo sin anticoagulante de 10 cc.
- 11 tubos de ensayo estériles de 5 cc. para trasvasar los sueros.
- 1 gradilla de plástico.
- 1 litro de alcohol.
- 11 torundas de algodón.
- Vehículo.
- Hielera.
- Fichas técnicas para registro (Ver Anexos).

#### **Recursos de tipo biológico:**

- 11 caninos procedentes del criadero FARPA, 4 machos raza basset hound, 2 machos raza pastor alemán, 3 hembras basset hound y 2 hembras pastor alemán.
- Prueba de rápida aglutinación **Canine Brucellosis Antibody Test Kit**.

### Localización geográfica

El trabajo de campo de la presente investigación se realizó en la Cd. de Chihuahua en el estado de Chihuahua.

Cuenta con una extensión territorial de 247 087 km<sup>2</sup> repartidos en 67 municipios, Sus coordenadas son al norte 31°48', al sur 25°38' de latitud norte; al este 103°18', al oeste 109°07' de longitud oeste.

El estado de Chihuahua colinda, al norte, con Nuevo México y Texas ; al este, con Coahuila ; al sur, con Durango; al suroeste, con Sinaloa; y, al oeste, con Sonora.

## **Métodos**

### **Recolección, procesamiento y almacenamiento de las muestras de caninos.**

La recolección de las muestras fue llevada a cabo por el investigador interesado. Se llenaron las boletas de campo con información específica de cada uno de los caninos muestreados (Ver Anexos).

Para la recolección de las muestras se contó con la ayuda de otra persona para sujetar al perro, y con ayuda de agujas de venopunción se extrajeron 5cc.de sangre, la que se depositaba en tubos con vacío (Vacutainer®) de 10 cc. (estériles) sin anticoagulante, y que fueron puestos en una gradilla de plástico dentro de la hielera en un ángulo inclinado; después de 24 horas se procedió a la separación del suero el cual fue colocado en tubos de ensayo estériles de 10cc. y fueron refrigerados de inmediato a 2°C. Cada muestra fue debidamente identificada según su número correlativo en la boleta de campo llenada previamente en el criadero.

Las muestras fueron recolectadas durante el mes de Marzo del 2013, en las fechas que de mutuo acuerdo se llegó con el dueño y/o encargado del criadero, según su disponibilidad, realizando la prueba de rápida aglutinación **Canine Brucellosis Antibody Test Kit** al momento de tener la totalidad de las mismas.

### **Procedimiento**

Este procedimiento fue realizado por el investigador interesado con ayuda del asesor principal.

Procedimiento para la prueba rápida de aglutinación en placa (RSAT)

1. Garantizar que la muestra y los reactivos se encuentren a una temperatura de 21 a 25°C antes de realizar la prueba.
2. Se coloca una gota de Reactivo A, control positivo, en un círculo de la tarjeta.
3. Utilizando una pipeta de plástico desechable para colocar una gota de suero problema en el otro círculo.
4. Se mezcla bien el Reactivo B, agitando enérgicamente el frasco y agregar una gota del reactivo B, cerca de cada gota de suero, con cuidado de no tocar el suero con la punta del gotero.
5. Mezclar cada combinación de antígenos en suero con un extremo separado de una varilla agitadora, se extiende hasta cubrir el círculo.

6. Se balancea suavemente la tarjeta durante 10-15 segundos y se coloca sobre una superficie plana hasta observar la aglutinación por no más de dos minutos.

Si el suero es negativo habrá ausencia de aglutinación, el animal se considera que no está infectado con *B. canis*. Si la tarjeta de resultado es positivo, se realizara la 2ME-RSAT.

### **Procedimiento para el 2-mercaptoetanol-prueba rápida de aglutinación en tarjeta (2ME-RSAT)**

1. Se añaden 2 gotas de Reactivo C, 2-mercaptoetanol a un tubo que contenga 2 gotas del suero a verificar y se mezcla bien.

2. Se coloca 1 gota de esta mezcla en un nuevo círculo de reacción.

3. Añadiendo 1 gota de Reactivo B, arriba de la solución de suero y mezclar con la varilla de agitación como se ha descrito anteriormente.

4. Balancear suavemente la tarjeta durante 10-15 segundos y colocar sobre una superficie plana y observar la aglutinación por no más de 2 minutos. Cuando la muestra RSAT-positiva también da positivo por 2ME-RSAT, el animal se diagnostica como infectado con *B. canis*. Cuando las muestras RSAT-positivas y las pruebas resultan negativas a 2ME-RSAT, el animal puede estar en la etapa temprana de la infección por *B.canis*, o, alternativamente, su suero puede contener aglutininas no específicas a *B. canis*. Para distinguir entre estas dos condiciones, un segundo suero de la muestra se debe recoger en aproximadamente treinta días, y Se deberá probar por el procedimiento 2ME-RSA nuevamente.

Sólo si esta muestra da positivo el animal se diagnostica *con B. canis*

### **Análisis estadístico**

#### **Cálculo de porcentaje:**

El cálculo por porcentaje de caninos seropositivos se realizó a través de un cálculo de regla de tres, tomando como base la muestra (n) como 100% y los caninos seropositivos como x:

$$P = \frac{x * 100}{n}$$



## VII.RESULTADOS

De los once caninos muestreados; de los cuales siete fueron de la raza Basset Hound, cuatro machos y tres hembras de entre 1 y 2 años y cuatro de la raza Pastor Alemán, dos machos y dos hembras de entre 1 y 3 años. Encontrándose solamente un macho Pastor Alemán de un año de edad originario de San Luis Potosí; positivo a las dos pruebas, RSAT y 2ME-RSAT.

Siendo así el 0.82% de casos seropositivos dentro del criadero FARPA.

**Cuadro1.- Caninos muestreados**

<b>ID TUBO</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>RAZA</b>	<b>SEXO</b>	<b>Fecha de Nacimiento</b>	<b>ORIGEN DEL CANINO</b>
<b>1</b>	Homer Junior	Basset Hound	M	26/09/2011	Polonia
<b>2</b>	Taco Boy	Basset Hound	M	20/09/2011	Cd. Juárez, Chihuahua
<b>3</b>	Noa	Basset Hound	M	20/09/2011	Cd. Juárez, Chihuahua
<b>4</b>	Black Label	Basset Hound	M	07/04/2011	Cd. Juárez, Chihuahua
<b>5</b>	Fanny	Basset Hound	H	29/09/2011	Cd. Juárez, Chihuahua
<b>6</b>	Red Rose	Basset Hound	H	07/04/2012	Cd. Juárez, Chihuahua
<b>7</b>	Roulette	Basset Hound	H	10/04/2011	D.F.
<b>8</b>	Ronie	Pastor Alemán	M	15/03/2012	San Luis Potosí
<b>9</b>	Aceves	Pastor Alemán	M	07/08/2010	Saltillo, Coahuila
<b>10</b>	Nikkita	Pastor Alemán	H	03/02/2012	Monterrey, N.L.
<b>11</b>	Mora	Pastor Alemán	H	09/03/2012	Saltillo, Coahuila

**Cuadro 2.- Resultados de las pruebas de rápida aglutinación**

<b>ID TUBO</b>	<b>RESULTADO RSAT</b>	<b>RESULTADO 2ME-RSAT</b>
<b>1</b>	Negativo	Negativo
<b>2</b>	Negativo	Negativo
<b>3</b>	Negativo	Negativo
<b>4</b>	Negativo	Negativo
<b>5</b>	Negativo	Negativo
<b>6</b>	Negativo	Negativo
<b>7</b>	Negativo	Negativo
<b>8</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
<b>9</b>	Negativo	Negativo
<b>10</b>	Negativo	Negativo
<b>11</b>	Negativo	Negativo

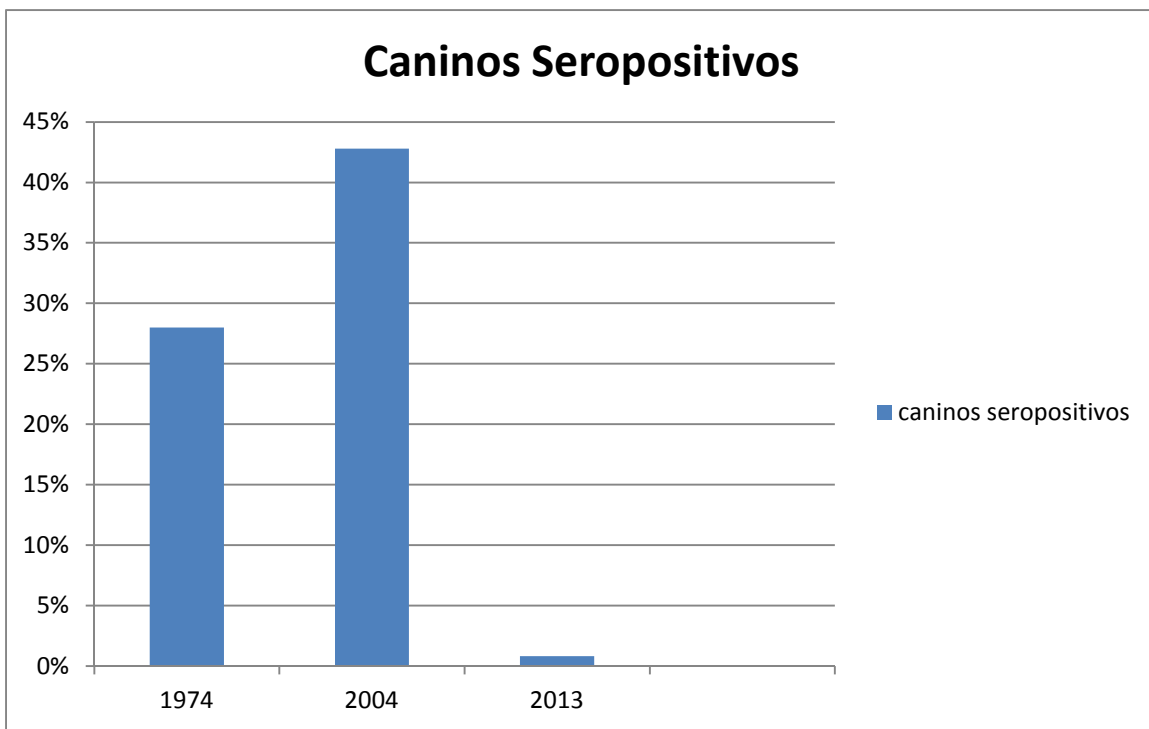
## VIII.DISCUSIÓN

En 1974, cuando por primera vez la enfermedad se diagnosticó en México se encontró que 28% de los caninos muestreados al azar tenían títulos de anticuerpos aglutinantes contra la bacteria *Brucella canis*.

González et al. en un estudio realizado en la Universidad Autónoma de México en el 2004 encontraron 42.8% de perros seropositivos a *Brucella canis*.

En este estudio se encontró el 0.82% de los casos seropositivos siendo así un porcentaje mucho menor, la incidencia de brucelosis canina se logró disminuir en el criadero gracias al buen manejo respecto a sanidad e higiene.

**Cuadro 3.- Porcentaje de caninos seropositivos**



## **IX. CONCLUSIONES**

En el criadero FARPA se logro disminuir significativamente los animales seropositivos a *Brucella canis*; mediante la realización de pruebas de aglutinación rápida a los animales utilizados como reproductores y a los animales que se desean introducir al criadero; evitando así la introducción de animales enfermos al criadero.

## X. ANEXOS

### BOLETA DE CAMPO PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLOGICO DE *Brucella canis*

#### Datos del criadero

Fecha de recolección de muestras: \_\_\_\_\_

Nombre del criadero: \_\_\_\_\_

Dirección del criadero: \_\_\_\_\_

Nombre del propietario: \_\_\_\_\_

Número de teléfono: \_\_\_\_\_

Número total de perros a muestrear: \_\_\_\_\_ Machos \_\_\_\_\_ Hembras \_\_\_\_\_

Observaciones:

#### Datos de los caninos a muestrear:

ID T U B O	Nombre	Raza	Sexo		Edad		Origen del canino		Ha presentado problemas reproductivos? ¿Cuáles?
			H	M	Años	Meses	Nacional	Importado	
1									
2									
3									
4									
5									

**BOLETA PARA DIAGNÓSTICO  
DE *Brucella canis* POR MEDIO DE LA PRUEBA DE RÁPIDA AGLUTINACIÓN  
CANINE BRUCELLOSIS ANTIBODY TEST KIT**

ID TUBO	RESULTADO	
	Positivo	Negativo
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

## XI. LITERATURA CITADA

1. Acha, PN.; Szyfres, B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington, US, Organización Panamericana de la Salud. p. 14-34. (Publicación científica No. 503).
2. Akan, M.; Sareyyüpoğlu, B.; Tel, O. 2004. Seroprevalence of *Brucellacanis* infection of dogs in Turkey (en línea). Consultado 10 mar. 2006. Disponible en <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2004&PID=8944&O=Generic>
3. Azanón Robles, MA. 1980. Determinación de anticuerpos de *Brucella canis* y *Brucella abortus* en perros de la colonia La Florida, Ciudad Capital. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 28 p.
4. Baldi, PC.; Wanke, MM.; Loza, ME.; Fossati, CA. 1993. *Brucella abortus* cytoplasmic proteins used as antigens in an ELISA potentially useful for the diagnosis of canine brucellosis. Veterinary Microbiology 41:127-134.
5. Bonagura, JD. 1995. Kirk's Current Veterinary Therapy XII. W. B. Saunders Co. 1094-1098.
6. Borie, C.; Cepeda, R.; Villarroel, M.; De los Reyes, M. 2002. Descripción de características reproductivas en tres perros seropositivos a *Brucella canis*. Arch. med. vet. 34(1):1-9.
7. Carmichael, LE. 1968. Canine brucellosis: Isolation, diagnosis, transmission. Proc. U.S. Livestock Sanitary Association 71:517-527.
8. \_\_\_\_\_. 1976. Canine Brucellosis: an annotated review with selected cautionary comments. Reprinted from The Cornell Veterinarian 6(2-3):105-116.  
39
17. \_\_\_\_\_.; Zoha, SJ. 1981. Properties of *Brucellacanis* surface antigens associated with colonial mucoidness. Reprinted from The Cornell Veterinarian 71(4):428-438.
18. \_\_\_\_\_. 1982. Serological responses of dogs to cell wall and internal antigens of *Brucellacanis* (B. canis). Veterinary Microbiology 7:35-50.
19. \_\_\_\_\_.; Flores-Castro, R. 1983. Problems in the serodiagnosis of canine brucellosis: Dog responses to cell wall and internal antigens of *Brucellacanis*. Develop. Biol. Standard 56:371-383.
20. \_\_\_\_\_.; Douglass, J.; Badakhsh, F. 1982. Improved rapid slide agglutination test for presumptive diagnosis of canine brucellosis (en línea). Journal of

ClinicalMicrobiology. Consultado 4 mar. 2006. Disponible en <http://www.pubmedcentral.gov/picrender.fcgi?artid=1277776&blobtype=pdf>

21. Cotrino, V.; Castillo, V.; Moreno, C. 2003?. Encuesta serológica sobre *Brucella canis* en pacientes atendidos en la Clínica de pequeños animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia (en línea). Consultado 16 feb. 2006. Disponible en <http://lmvltda.com/programas/ar14.html>
22. \_\_\_\_\_; Espíndola, E. 2003?. Brucelosis canina: Revisión y reporte de casos (en línea). Consultado 4 mar. 2006. Disponible en <http://lmvltda.com/programas/ar18.html>
23. DelVecchio, VG.; Kapatral, V.; Redkar, RJ.; Patra, G. 2001. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucellamelitensis*(en línea).Proceedings of the Academy of Sciences of the United States of America.Consultado 2 mar. 2006. Disponible en [www.cbs.dtu.dk/staff/dave/genomics\\_course/Brucella\\_melintensis.pdf](http://www.cbs.dtu.dk/staff/dave/genomics_course/Brucella_melintensis.pdf)
24. Estrada García, JF. 1976. Investigación de anticuerpos contra *Brucella canis* en la especie canina en la ciudad capital. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 28 p.
25. Ettinger, SJ.; Feldman, EC. 2000. Tratado de medicina interna veterinaria: enfermedades del perro y el gato. Trad. RA Taibo. 5 ed. Philadelphia, US. W.B. Saunders Company. v. 1, p. 432-436, v. 2, p. 1687, 1699.
26. Euzéby, J. 1998. Dictionnaire de BactériologieVétérinaire (en línea). FR. Consultado 1 mar. 2006. Disponible en <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/canis.html>
27. Flores-Castro, R.; Carmichael, LE. 1978. Canine Brucellosis: Current status of methods for diagnosis and treatment. J. Clin. Microbiology 1978:17-24.
28. \_\_\_\_\_; Segura, R. 1975. A serological and bacteriological survey of Canine Brucellosis in México.Reprinted from The Cornell Veterinarian 66(3)347-352.
29. \_\_\_\_\_; Suarez, F.; Ramirez-Pfeiffer, C.; Carmichael, LE. 1977. Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in México City. Journal of ClinicalMicrobiology 6(6):591-597.
30. González, HB.; Ramírez, RM.; Flores, R.; Suárez, F. 2004. Reproductive problems in male dogs infected with *Brucellacanis*(en línea). Consultado 21 feb. 2006. Disponible en [www.ejournal.unam.mx/vet\\_mex/vol35-02/RVM35204.pdf](http://www.ejournal.unam.mx/vet_mex/vol35-02/RVM35204.pdf)
31. Guevara, FR.; Fuentes, J.; Landínez, G. 2000. Brucelosis en niños: una causa de



síndrome febril prolongado de difícil diagnóstico, revisión a partir de un caso (en línea). Consultado 4 mar. 2006. Disponible en <http://www.encolombia.com/medicina/pediatria/pediatria35400brucelosis.htm>

32. Gutiérrez Barberena, ME. 2001. Prevalencia de *Brucella canis* en perros y personas en contacto con ellos en la ciudad de Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 62 p.
33. GVMA (Georgia veterinary medical association, US). 2005. Caninebrucellosis (*Brucellacanis*) (en línea). Consultado 24 feb. 2006. Disponible en <http://www.gvma.net/associations/2613/files/K9%20Brucellosis%20Fact%20Sheet%203%2014%2005.pdf>
34. Henderson, RA.; Hoerlein, BF.; Kramer, TT.; Meyer, ME. 1974. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucellacanis*. Reprinted from the Journal of the American Veterinary Medical Association 165(5):451-455.
35. ICSP (International committee on systematics of Prokaryotes, DE). 2005. Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*: Names of taxa (en línea). Consultado 24 feb. 2006. Disponible en <http://www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm#taxa>
36. Jones, LM.; Zanardi, M.; Leona, D. 1967. Taxonomic position in the Genus *Brucella* of the causative agent of canine abortion. Journal of Bacteriology 95(2):625-630.
37. Jubb, KV.; Kennedy, PC.; Palmer, N. 1991. Patología de los animales domésticos. 3 ed. Uruguay, Hemisferio Sur. v. 1, p. 147, 437, v. 3, p. 390, 392-394, 498.
38. Keid, LB.; Vieira, NR.; Cortez, AD.; Richtzenhain, LJ.; Vasconcellos, SA. 2004. The polymerase chain reaction (PCR) for the detection of *Brucellaspp.* in whole-blood of naturally infected dogs (en línea). Consultado 2 marz. 2006. Disponible en [www.biologico.sp.gov.br/arquivos/V71\\_supl\\_raib/247.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/V71_supl_raib/247.pdf)
39. \_\_\_\_\_; Soares, RM.; Morais, ZM.; Richtzenhain LJ. 2004. *Brucellaspp.* isolation from dogs from commercial breeding kennels in Sao Paulo State, Brazil (en línea). Brazilian Journal of Microbiology. Consultado 21 feb. 2006. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v35n1-2/arg27.pdf>
40. Mateu-de-Antonio, EM.; Martin, M. 1993. Use of indirect enzyme-linked immunosorbent assay with hot saline solution extracts of a variant (M-) strain of *Brucellacanis* for diagnosis of brucellosis in dogs. Am J Vet Res 54(7):1043-1046.
41. \_\_\_\_\_; Martin, M.; Casal, J. 1994. Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. Reprinted from Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 6(2):257-259.

42. McWilliams Engelhardt, CE. 1974. Incidencia de *Brucellacanis* en perros en el distrito de Chiclayo. Tesis Med. Vet. Chiclayo, Perú, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. 46 p.
43. Monroe, PW.;Silberg, SL.; Morgan, PM.; Adess, M. 1975. Seroepidemiological investigation of *Brucellacanis* antibodies in different human population groups (en línea). Journal of Clinical Microbiology. Consultado 24 feb. 2006. Disponible en <http://www.pubmedcentral.gov/picrender.fcgi?tool=pmcentrez&blobtype=pdf&artid=274195>
44. Montes, I. 2001. Diagnóstico de la Brucelosis (en línea). Consultado 21 feb. 2006. Disponible en [www.seimc.org/control/revi\\_Sero/pdf/diagbruce.pdf](http://www.seimc.org/control/revi_Sero/pdf/diagbruce.pdf)
45. Moore, JA.;Kakuk, TJ. 1969. Male dogs naturally infected with *Brucellacanis*. Reprinted from the Journal of the American Veterinary Medical Association 155(8):1352-1358.
46. Myers, D.; Varela V.; Coltorti, E. 1974. Comparative sensitivity of gel-diffusion and tube agglutination tests for the detection of *Brucellacanis* antibodies in experimentally infected dogs (en línea). American Society for Microbiology. Consultado 4 mar. 2006. Disponible en [www.pubmedcentral.gov/picrender.fcgi?artid=186568&blobtype=pdf](http://www.pubmedcentral.gov/picrender.fcgi?artid=186568&blobtype=pdf)
47. Palacios Rosales, AE. 1989. Detección de caninos seropositivos a *Brucella canis* utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa, aislamiento y confirmación de la bacteria (estudio de 150 casos). Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 70 p.
48. Paulin, LM. 2001. Brucelose (en línea). Consultado 4 abr. 2006. Disponible en [www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/v70\\_2/paulin.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/v70_2/paulin.pdf)
49. Peter, A. 2000. Care and management of the breeding bitch (en línea). Consultado 18 feb. 2006. Disponible en [www.vet.purdue.edu/depts/vcs/Peter/524femaledog.html#top](http://www.vet.purdue.edu/depts/vcs/Peter/524femaledog.html#top)
50. Pollock, RV. 1980. Canine Brucellosis: Current status. Compendium on continuing education 1980:255-268.
51. SOCHIVET (Sociedad chilena de infectología veterinaria, CL). 2004. Pauta técnica de vigilancia de enfermedades transmisibles en pequeños animales de compañía (en línea). Consultado 5 mar. 2006. Disponible en [http://www.vigivet.com/pauta\\_tecnica.htm](http://www.vigivet.com/pauta_tecnica.htm)
52. Tizard, IR. 1998. Inmunología veterinaria. 5 ed. México. McGraw-Hill. 567 p.