



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA POR *B. canis* EN CLINICAS VETERINARIAS DEL GRAN SANTIAGO 2002 - 2003

VÍCTOR HUGO GÓMEZ REYES

Memoria para optar al Título Profesional
de Médico Veterinario Departamento de
Medicina Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: MARÍA LUISA SÁNCHEZ CHONG

SANTIAGO, CHILE
2007



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA POR *B. canis* EN CLINICAS VETERINARIAS DEL GRAN SANTIAGO 2002 - 2003

VÍCTOR HUGO GÓMEZ REYES

Memoria para optar al Título Profesional
de Médico Veterinario Departamento de
Medicina Preventiva Animal

NOTA FINAL:.....

PROFESOR GUÍA: MARÍA LUISA SÁNCHEZ CHONG
PROFEOR CONSEJERO: ALICIA VALDES OLGUÍN
PROFESOR CONSEJERO: CONSUELO BORIE POLANCO

SANTIAGO, CHILE
2007

INDICE

	Páginas
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	5
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS ESPECIFICOS	22
MATERIAL Y MÉTODOS	23
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA	38
ANEXO 1	46
ANEXO 2	47

RESUMEN

Se muestrearon aleatoriamente 384 caninos de clínicas veterinarias de las 34 comunas del Gran Santiago, determinándose la seroprevalencia de brucelosis canina por *Brucella canis*. Los animales correspondieron a mayores de seis meses de edad, sin distinción de sexo, raza ni condición sanitaria. La técnica empleada fue contraelectroforesis con antígeno LPS-R de *Brucella ovis*, y se realizó en los Laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Junto a la extracción de muestra sanguínea se realizó una encuesta por animal, para determinar el conocimiento sobre la patología por parte del propietario de la mascota, la existencia o no de sospecha del Médico Veterinario tratante y, antecedentes reproductivos relacionados.

Serológicamente se obtuvieron 21 muestras sospechosas, a las cuales no se les realizó seguimiento y por lo tanto fueron descartadas. De las 363 restantes se obtuvieron 16,8% (61/363) resultados positivos y 83,2% (302/363) negativos. Según positividad y sexo, el 19,6% de los positivos correspondieron a machos y el 14,5% a hembras, sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Se observó una relación de positividad con la edad de las mascotas, obteniéndose la mayor positividad en el grupo de animales de 3 a 5 años.

La sensibilidad del médico veterinario a diagnosticar los positivos fue de 24,5% y la especificidad a establecer los negativos fue de 90%. El valor predictivo entre sospecha clínica del veterinario tratante y seropositividad fue de 34,1%.

La encuesta reveló escaso conocimiento de los propietarios sobre brucelosis canina; sólo el 4,2% recordó al menos un signo de la enfermedad. La mayoría de los animales positivos resultaron asintomáticos y dentro de los signos clínicos observados, apareció con mayor frecuencia el aborto en hembras y la orquitis en machos. Se destaca la presencia de animales menores de 1 año positivos a brucelosis canina y con antecedentes de no presentar cruza previa.

SUMMARY

There were sampled aleatory 384 dogs of veterinary clinics of the communes of the Great Santiago, deciding the seroprevalence of canine brucellosis for *Brucella canis*. The animals corresponded to major of six months of age, without distinction of sex, race or sanitary condition. The used technology was contraimmuno-electrophoresis with antigen LPS-R of *Brucella ovis* and was realized in the laboratories of Microbiology of the Veterinary and Cattle Science Faculty of the University of Chile.

Close to the extraction of blood sample a survey was realized by animal, to determine the knowledge on the pathology on the part of the owner of the pet, the existence or not of suspicion of the Veterinary Doctor dealer and, reproductive related precedents.

Serologically obtained 21 suspicious samples, to which they follow-up was not realized; therefore, they were rejected. Of the 363 remaining ones there obtained 61/363 (16,8%) seropositive results and 302/363 (83, 2%) negatives. In agreement to the sex 19,6% of the positives corresponded to males and 14,5% to females. In view of the size of the sample, it was not possible to relate disease to sex.

A relation was observed of seropositivity by the age of the pets, the major seropositivity being in the group of animals of 3 to 5 years.

The sensitivity of the veterinary medic to diagnose the seropositive was of 24,5% and the specificity to establish the seronegatives was of 90%. The predictive value between suspicion of the veterinary medic and seropositivity was the 34,1%.

The majority of the seropositive animals turned out to be asymptomatic and inside the clinical observed signs, it appeared with major frequency to the abortion in females and the orchitis in males. Is outlined the presence of 1-year old animal minors seropositives to canine brucellosis and with precedents of not presenting it crosses.

INTRODUCCIÓN

De las enfermedades de distribución mundial que afectan a los animales, la brucelosis canina producida por *Brucella canis* ya ha sido descrita en Chile. Afecta a cánidos sin distinción de sexo, raza, edad o condición sanitaria; es de curso crónico y tiene predilección por el tracto reproductivo. En hembras provoca alteraciones como abortos en el último tercio de la gestación e infertilidad y, en los machos se presenta con orquitis, epididimitis, atrofia testicular y subfertilidad o infertilidad, entre otros síntomas. A la fecha, se suma a estas características la inexistencia de vacunas y tratamientos confiables. Es una enfermedad zoonótica que al igual que algunas especies del Género *Brucella*, causa fiebre ondulante en el hombre.

La diseminación de la enfermedad entre caninos se debe tanto a las características propias del agente, como al gran desplazamiento e intercambio que existe entre estos animales.

Fue descrita en Chile en el año 1978 en la Región Metropolitana y en Valdivia, donde fue diagnosticada por aislamiento bacteriano y, por serología, a través de la técnica de inmunodifusión en gel.

En 1979 un primer estudio nacional de la enfermedad, empleando la técnica de inmunodifusión en gel de agar, encontró un 11,5% de seropositividad en la masa canina de los principales criaderos comerciales de la Región Metropolitana. Cinco años después, en criaderos de la misma región, la positividad alcanzó al 13,5%. Datos posteriores, obtenidos por el Servicio de Microbiología Veterinaria de la Universidad de Chile, y empleándose la técnica serológica de contrainmunolectroforesis, dan resultados positivos cercanos al 20 %.

La brucelosis canina, por su carácter social al ser una enfermedad zoonótica, por su incidencia económica en los criaderos caninos afectados

y, por el gran costo afectivo que tiene al comprometer a animales de compañía, incentiva a conocer la situación actual de la enfermedad en la población canina del Gran Santiago.

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Género *Brucella*

El género *Brucella* esta compuesto por seis especies, cuatro de ellas asociadas a la brucelosis humana: *B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis* y *B. canis*. Estudios de hibridación de ácidos nucleicos indican que sólo existe una especie de *Brucella* y que las demás son serovariantes de *B. melitensis* (Murray *et al.*, 1997).

Brucella es una bacteria intracelular facultativa Gram (-), pequeña (1,0 a 1,5 μ m), inmóvil, acapsulada, de crecimiento lento en los cultivos y no fermenta los hidratos de carbono (Jawestz *et al.*, 1981; Hagan y Bruner, 1988, Murray *et al.*, 1997; Bruce, 2006). Las especies se diferencian por sus propiedades de crecimiento, reactividad bioquímica, composición de los ácidos grasos de la pared, características genéticas, fisiológicas, de cultivo y estructurales (Corbel *et al.*, 1984; Murray *et al.*, 1997). Se caracterizan por ser, en algunos casos, hospedero específicas e inducir en los animales, una patología de carácter reproductivo (Russel *et al.*, 1982; Nahed *et al.*, 1984; Carmichael y Greene, 1998; Wanke, 2004; Bruce, 2006). Algunas especies originan colonias naturalmente lisas (S), como *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis* y, especies rugosas (R) como *B. ovis* y *B. canis*. La diferencia, entre S y R, radica en la composición del lipopolisacárido (LPS) de la pared celular (Bowden, 1996).

Según Murray *et al.*, (1997), *Brucella* es considerada un parásito intracelular del sistema retículo endotelial, capaz de evadir la respuesta inmune humoral. La supervivencia intracelular puede ser prolongada y, es mediada por la inhibición de la degranulación de los leucocitos polimorfonucleares, a menos que se desarrolle inmunidad celular específica.

Brucella es sensible a desinfectantes como los derivados de amonio cuaternario, halogenados, productos yodados, formaldehidos y

soluciones de cloro (Carmichael y Greene, 1993; Borie, 2000; Wanke, 2004; Bruce, 2006). Permanece viable durante cuatro meses en la orina y leche, puede sobrevivir al congelamiento y descongelamiento, pero muere cuando se expone a 60° C por 10 minutos (Meyer, 1990).

B. canis afecta a perros, cánidos silvestres y al hombre (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004; Bruce, 2006); vive poco tiempo fuera del perro (Carmichael, 1998) y posee antigenicidad cruzada con *B. ovis*, ya que ambas especies son rugosas y comparten el LPS-R (Carmichael y Greene, 1998).

Antecedentes históricos de la brucelosis canina

Blasco y Gamazo (1994) señalan que la brucelosis humana es una de las enfermedades bacterianas más comunes del planeta. Su denominación es en honor al médico David Bruce, quien aisló el agente causal por primera vez, desde soldados en la isla de Malta en 1887. Posteriormente, el médico veterinario Zammit hace una relación entre los productos lácteos no pasteurizados originados de cabras de esa misma isla, con fuente de la infección en el hombre, por la denominada *Brucella melitensis* (Blasco y Gamazo, 1994).

Años después, se aislaron otras especies del Género *Brucella* en una amplia gama de hospederos, siendo éstos exclusivos o, en ocasiones, provocando infecciones cruzadas (Blasco y Gamazo, 1994; Carmichael y Greene, 1998). *B. abortus* infecta primariamente al ganado bovino, *B. melitensis* a ovinos y caprinos, *B. suis* al porcino, *B. neotomae* a la rata del desierto, *B. ovis* al ganado ovino y *B. canis*, a los cánidos. Todas las especies son zoonóticas, excepto *B. ovis* y *B. neotomae* (Blasco y Gamazo, 1994; Wanke, 2004).

Carmichael y Greene (1998) señalan que la brucelosis canina es una enfermedad infecciosa no letal, de carácter crónico, que afecta a perros de cualquier raza, sexo, edad o condición sanitaria; puede variar su

prevalencia siendo mayor en sectores socioeconómicos bajos por el alto nivel de cruzas (Carmichael y Greene, 1998).

Los seres humanos son susceptibles a *B. canis*, pero las infecciones son poco comunes (Carmichael, 1998). La enfermedad en el hombre se denominada “fiebre ondulante”, y no compromete el tracto reproductivo como ocurre en los animales (Carmichael y Greene, 1998). En las personas, la enfermedad es más leve que por otras brucelas y se caracteriza por sudoración y fiebre aguda o intermitente, disminución de peso, debilidad, adenopatías, hepato-esplenomegalia, complicaciones osteoarticulares y cardíacas (Hubbert *et al.*, 1980; Russell *et al.*, 1982; Blasco y Gamazo, 1994; Bruce, 2006). La enfermedad con frecuencia es crónica e incluso invalidante, aunque rara vez es mortal (Bowden *et al.*, 1996).

A diferencia de los caninos, los seres humanos responden rápidamente a los antibióticos (Carmichael, 1998). En 1999 en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, se recibieron dos muestras de pacientes humanos con antecedentes sintomatológicos de brucelosis y negativos a pruebas serológicas clásicas. En ambos casos, se observó una línea de precipitación al antígeno LPS-R de *B. ovis* (Sánchez *et al.*, 2000). Posteriormente, se notificó la seropositividad, por técnica de contrainmunolectroforesis, a tres alumnas de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile.¹

Es importante destacar que aún siendo zoonótica, es rara la infección por *B. canis* en el hombre; posiblemente debido a que requiere una exposición masiva para producir la enfermedad (Borie, 2000; Bruce, 2006). Se piensa que en el humano la incidencia de brucelosis por *B. canis* es baja,

¹ Dra. María Luisa Sánchez Chong. Comunicación personal.
Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.

debido a que el hombre es más resistente a la infección por esta especie bacteriana (Fredrickson y Barton, 1974).

En relación a la infección en el perro, *B. canis* fue aislada por primera vez por Carmichael en 1966, desde tejidos fetales y descargas vaginales post-aborto (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004). En pocos años hubo una distribución mundial de la bacteria, afectando a caninos de países como Brasil, Argentina, Perú, Canadá, Alemania, Inglaterra, Japón, Nigeria y otros. Los datos de seroprevalencia de brucelosis canina son variables; y se estima de 20 a 30% en Centro y Sudamérica (Carmichael y Shin, 1999). En tanto que en Estados Unidos y Japón, se describen seroprevalencias de 7 a 8% en perros callejeros (Carmichael y Shin, 1999; Bruce, 2006).

Flores-Castro *et al.*, (1977) en la ciudad de México y utilizando la técnica de inmunodifusión en agar, encontraron 11,8% de seropositividad, en 59 perros callejeros. Posteriormente también en México Carmichael *et al.*, (1980) informaron de un 17% de positividad en perros callejeros y 11 a 20% en perros de criadero (Méndez *et al.*, 1998).

En poblaciones de perros vagos, Perú presenta índices de seropositividad de 28% y Argentina de 30,5% (Carmichael y Greene, 1998). En la ciudad de Bogotá (Colombia), Castillo *et al.*, (2003) en los años 2001 y 2002, obtuvieron una seropositividad de 20,3% por técnica de inmunodifusión en gel de agar, en caninos que asistieron a clínicas veterinarias por diferentes causas. En Brasil, en las ciudades de Porto Alegre, Sao Paulo, Botucatu y en el municipio de Santana de Parnaíba se encontró, seroprevalencias de 11,97%, 7,5%, 1,77% y 9,5% respectivamente, en perros callejeros (Moraes *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2003).

En Chile, la bacteria fue aislada por primera vez en 1978 simultáneamente en el área Metropolitana y en Valdivia (Pinochet *et al.*,

1979; Zamora *et al.*, 1980). Pinochet *et al.*, en 1979 quienes, en 6 de 13 criaderos muestreados y con un total de 226 reproductores encontraron un 11,5% de seropositividad. Posteriormente, en 1979 en la X región se encontró que 16,7% de 174 perros fueron positivos, por técnica de seroaglutinación en tubo (Pinochet y Borie 1987). Otro estudio de seroprevalencia realizado por Sánchez *et al.*, en 1986, en 9 criaderos de la región Metropolitana, y con un total de 446 caninos y por técnica de inmunodifusión, obtuvieron una positividad masa de 13,5%; incluso, comunicaron prevalencias cercana al 40% en dos criaderos. Estas cifras demostraron un aumento en relación al estudio anterior realizado por los mismos autores. Un estudio realizado por Carcamo (1994) en la X región informa un 10.9% de positividad en 128 perros en la comuna Máfil. Sánchez *et al.*, (2000) en el servicio de rutina diagnóstica del laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, por técnica de conrainmunolectroforesis, informaron 25,4% de positividad en 67 muestras durante 1993; 9,4% en 128 para 1994; 20,6% en 136 para 1995; 23,8% en 488 para 1996; 28,1% en 484 para 1997; 15,7% en 425 para 1998 y 18,7% en 208 para 1999. Estos datos permitieron sugerir un aumento en las seroprevalencias (Sánchez, 2000). Finalmente Sánchez *et al.*, (2006) por técnica de conrainmunolectroforesis informan un 20,5% de positividad.

Vías de infección de *B. canis* en caninos

B. canis infecta al hospedero susceptible al penetrar las mucosas, en especial la vaginal, conjuntival y bucal. La dosis mínima para la infección vía oral en perros es de 10^6 bacterias (Carmichael y Greene, 1993), con un tiempo de incubación de 6 a 21 días (Carter *et al.*, 1989). Para la vía conjuntival es de $10^4 - 10^5$ bacterias (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004); y para la vía oronasal se requiere una dosis de 10^{10} bacterias/ml (Carter *et al.*, 1989; Carmichael y Greene, 1998).

Para Carter *et al.*, (1989) y Carmichael y Greene (1998) la orina es una de las principales vías de infección. En machos se encuentran

concentraciones de 10^3 a 10^6 bacterias/ml. en próstata y epidídimo; desde allí son diseminadas por fluido seminal y ocasionalmente por la orina, hasta por un periodo de dos años (Carmichael y Greene, 1998; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

En la orina de las hembras la bacteria se encuentra en menor cantidad que en la de los machos (Carter *et al.*, 1989; Carmichael y Greene, 1998); sin embargo, la bacteriuria en hembras y machos persiste al menos por tres meses (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

Según Carmichael y Greene (1993), la leche de hembras infectadas posee pocas bacterias y carece de importancia en la infección de cachorros; en tanto que Carter *et al.*, (1989), Briseño *et al.*, (2004) y Bruce (2006) consideran a la lactancia como un medio de transmisión.

El método más común de transmisión de la enfermedad es a través de la ingesta de productos infectados, tales como placenta, líquido amniótico, tejido fetal y descargas vaginales (Carter *et al.*, 1989; Carmichael, 1998; Briseño *et al.*, 2004, Wanke, 2004; Bruce, 2006). Luego de un aborto, la bacteria se elimina por las descargas vaginales durante 4-6 semanas, las que son una fuente común de contaminación (Carmichael, 1998; Borie, 2000).

En relación con la transmisión congénita existen opiniones divergentes, así Carmichael y Greene (1993) señalan que la mayoría de los cachorros se infecta *in utero*, en tanto que para Russell *et al.*, (1982) esta vía tiene poca importancia.

Los procedimientos como vaginoscopía, inseminación artificial, transfusión sanguínea y uso de jeringas contaminadas, pueden ser causa de transmisión (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

Se aisló *B. canis* en un ejemplar de *Rhipicephalus sanguineus* desde una perra infectada por *B. canis*, lo que sugiere la

posibilidad de considerar a este ectoparásito como un vector mecánico (Peres *et al.*, 1981)

Al ingresar la bacteria al huésped, esta es fagocitada y llevada, vía sistema monocitomacrófago a bazo, hígado, linfonódulos y aparato reproductor donde se multiplica, provocando procesos inflamatorios que generan la mayoría de los síntomas. A las cuatro semanas post-infección, y al vencer la barrera inmunitaria, la bacteria se disemina vía linfática o hematológica, realizando bacteremias que pueden durar hasta 64 semanas (Carmichael y Greene, 1993; Bruce, 2006). En esta etapa el microorganismo es eliminado por secreciones y excreciones, lo que implica riesgos por contacto a personas, incluyendo a médicos veterinarios tratantes (Carmichael y Greene, 1998; Wanke, 2004; Barrouin-Melo *et al.*, 2007).

Manifestaciones clínicas en el canino

En términos generales, los signos clínicos son muy variables y están asociados principalmente, al tracto reproductivo (Carmichael y Greene, 1993; Carmichael, 1998; Bruce, 2006). En las hembras preñadas e infectadas, lo más característico es el aborto entre los días 45 a 55 de gestación (Pinochet y Borie, 1987; Carmichael, 1998; Borie, 2000; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

Cuando la bacteria invade el útero gestante a nivel del epitelio trofoblástico que envuelve al embrión, se produce placentitis que finalmente conduce al aborto (Borie y Sánchez, 2002; Wanke, 2004).

En ocasiones la placenta se observa con necrosis focal (Carmichael y Greene, 1998); observándose al feto abortado normal o autolizado. Según Carmichael y Greene (1993) en estos fetos se observa edema subcutáneo, congestión y hemorragia en la región subcutánea abdominal, además de derrames serosanguinolentos peritoneales y linfadenopatía periférica generalizada. Durante el periodo de post-aborto,

se pueden observar descargas vaginales café o gris verdosas, de variada consistencia que persisten hasta seis semanas. También puede ocurrir muerte temprana y reabsorción del embrión, o aborto 10 a 20 días después del servicio. Esto último puede no evidenciarse y la hembra sólo se considera como no preñada (Carmichael, 1998). Las hembras sólo transmiten *B. canis* durante el estro, al cruzarse o post-aborto y eliminan la bacteria por secreciones vaginales, leche y fetos (Carmichael y Greene, 1993; Borie, 2000).

Durante el estro, la preñez o el aborto, reaparece la bacteremia, elevándose los títulos de anticuerpos; a diferencia de la infección crónica donde se pueden observar resultados negativos. Por otra parte, el empleo de antibióticos puede suprimir la bacteremia y la respuesta serológica relacionada, contribuyendo a una falsa serología negativa y al fracaso en el aislamiento del microorganismo en los perros enfermos (Carmichael y Greene, 1998).

Las hembras infectadas y en etapa no reproductiva, como también los prepúberes infectados, no presentan síntomas (Carmichael y Greene, 1993; Carmichael, 1998).

En machos, el signo más común es epididimitis de uno o ambos testículos, orquitis e infertilidad; también se puede presentar atrofia testicular y dermatitis escrotal húmeda (Carter *et al.*, 1989; Carmichael, 1998; Briseño *et al.*, 2004; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

El semen de perros infectados contiene un gran número de espermatozoides anormales y células inflamatorias, especialmente durante los tres primeros meses de la infección (Carmichael y Greene, 1993; Wanke, 2004; Bruce, 2006). Aquellos con enfermedad crónica pueden tener un número reducido de espermatozoides inmaduros o carecer de ellos (Bruce, 2006).

La presencia de anticuerpos antiesperma contribuye a la infertilidad del macho (Carmichael, 1998; Bruce, 2006). Según Carmichael y Greene (1993) son acúmulo de líquido serosanguinolento en la túnica, dermatitis escrotal, orquitis e infertilidad.

Otros signos clínicos inespecíficos en ambos sexos incluyen: letargia, envejecimiento prematuro, linfadenopatía, y uveítis recurrente, pelaje seco y sin brillo, pérdida de vigor e intolerancia al ejercicio, meningitis, encefalitis no supurativa, discoespondilitis que puede complicarse con compresión medular, paresia y ataxia. La osteomielitis causa cojera del miembro afectado, también puede observarse dermatitis piogranulomatosa, esplenomegalia y signos neurológicos que comienzan tres semanas posteriores a la primera cruce. La fiebre es poco frecuente, debido a la ausencia de endotoxinas bacterianas, a menos que se presente una infección bacteriana secundaria (Carter *et al.*, 1989; Carmichael y Greene, 1993; Carmichael, 1998; Briseño *et al.*, 2004; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

En cuadros crónicos hay alteraciones inmunopatológicas como arteritis y aglutinación espermática; esto último dado por un proceso autoinmune que genera la ruptura de células epiteliales del epidídimo, próstata y testículo. No existe una relación directa entre la presencia de síntomas con el aislamiento de *B. canis* y el diagnóstico serológico (Carmichael y Greene 1998; Wanke, 2004).

Población canina

El perro (*Canis familiaris*) es uno de los animales domésticos más antiguos que convive con el hombre y al que se atribuye ser un potencial agente transmisor y diseminador de enfermedades zoonóticas (Ibarra *et al.*, 1997), entre ellas la brucelosis.

En Chile, el aumento de la esperanza de vida de las personas ha implicado un incremento de la población de mascotas, entre ellas el perro, con lo cual hay un aumento en la relación hombre- animal en la ciudad de Santiago (Urcelay y Di Silvestri, 1990). Al respecto, Ibarra *et al.*, (1997) estimaron para la comuna de El Bosque, una población canina de 41.586 perros, con un promedio de 1,01 perros por vivienda. Otro estudio, para 28 comunas del gran Santiago, planteó una población canina de 735.813 perros con un promedio de 0,76 animales por vivienda; señalándose, un incremento de 22.000 perros por año (Ibarra *et al.*, 1999).

Morales *et al.*, (1993) señalan una clara tendencia de aumento en el número medio de perros por vivienda, en la medida en que declina el nivel socioeconómico del propietario. Esto hace presumir una menor preocupación por el cuidado, alimentación y control reproductivo de las hembras; lo que aumenta los riesgos de agentes zoonóticos.

Conocer el tamaño de la población canina permite orientar y priorizar acciones de los programas de control demográfico, así como controlar enfermedades zoonóticas, vacunaciones, diseñar programas de educación sanitaria de la población; con un óptimo aprovechamiento de los recursos por parte de quienes deben elaborar, ejecutar y administrar los programas (Ibarra, 1997).

Diagnóstico clínico de brucelosis canina

El examen clínico es difícil, por tratarse de una enfermedad insidiosa en su inicio y su variable signología. Las sospechas dicen relación con la presencia de alteraciones reproductivas tales como: aborto en etapa tardía, que puede presentarse en forma permanente, intermitente o sólo en una ocasión, además se puede producir reabsorción embrionaria; que no altera el ciclo de la hembra. En el macho se observa orquitis, epididimitis y atrofia testicular uni o bilateral permanente. En ambos sexos el paciente no presenta fiebre y, pueden observarse signos sutiles e inespecíficas como: letargia, disminución de peso, linfadenopatía leve, osteomielitis,

esplenomegalia, poliartritis, discoespondilosis, glomerulonefritis, uveitis anterior recurrente y, edema corneal (Carmichael y Greene, 1993; Carmichael, 1998; Carmichael y Shin, 1999; Wanke 2004; Bruce, 2006). En los exámenes hematológicos y bioquímicos no se presentan alteraciones, o bien son inespecíficas (Carmichael y Greene, 1993). Antes de entregar un diagnóstico clínico positivo, se debiera realizar un cultivo de sangre, considerando que para éste, el canino no debe recibir antibióticos previamente (Carmichael, 1998).

Las muestras de sangre para hemocultivo son válidas a partir de la primera semana post-infección; sin embargo, dado que la bacteremia es intermitente y su presencia no se puede predecir clínicamente, su interpretación debe ser cautelosa. Es decir, un cultivo negativo no descarta totalmente la infección (Borie, 2000).

En cuanto al diagnóstico indirecto o serológico, los procedimientos disponibles son discutidos desde el punto de vista de la sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas. Este tipo de diagnóstico ocasiona un dilema particular, ya que muchas pruebas no han sido evaluadas críticamente y pueden dar resultados falsos positivos. Se requiere de experiencia en la preparación de antígenos diagnósticos, como también en la interpretación de las pruebas (Carmichael, 1998).

Los antígenos de superficie de la brucela rugosa, dan reacción cruzada con muchos anticuerpos de otros microorganismos no patógenos (Carmichael, 1998; Wanke, 2004; Bruce, 2006).

En el diagnóstico de brucelosis canina, se ha priorizado el empleo de *B. ovis* como antígeno por sobre la utilización de *B. canis*, ya que ambas especies comparten el LPS-R, y *B. ovis* es una especie no zoonótica lo que facilita la bioseguridad.²

² María Luisa Sánchez Chong Comunicación personal.
Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.

Las técnicas diagnósticas serológicas son variadas, siendo las más frecuentes las de aglutinación (en placa y tubo), precipitación y, Elisa (Carmichael y Greene, 1998).

La Aglutinación en placa (SAT) es una técnica rápida, económica, sensible, cualitativa, donde se mezcla el suero del paciente con una suspensión de *B. ovis*. La lectura de la reacción se realiza a los cinco minutos (Badakhsh *et al.*, 1982). La detección de anticuerpos se describe temprana, a las 3 a 4 semanas post infección. Según Carmichael y Greene (1993) y Wanke, (2004), los anticuerpos están orientados contra el LPS-R de la brucela, y se describen reacciones falsas positivas que pueden alcanzar el 50%; pero los falsos negativos son bajos. También, presenta reacción cruzada con otros agentes bacterianos como algunos serotipos de *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus equuli*, *Bordetella bronchiseptica* y *Pseudomonas aeruginosa* (Carmichael y Greene, 1993; Barrouin-Melo *et al.*, 2007). Para Carmichael (1998), sólo un 40% de los sueros que aglutinan son positivos a brucelosis canina; por lo tanto, no deben ser considerados infectados hasta que se les realicen pruebas diagnósticas adicionales como es el cultivo de sangre.

Otro factor que puede incidir en esta prueba es la hemólisis, puesto que la hemoglobina causa aglutinación falsa positiva del antígeno (Carmichael y Greene, 1993).

Para disminuir el número de falsos positivos, esta prueba se ha mejorado adicionándole 2 mercapto-etanol (2-ME); que disminuye las reacciones inespecíficas al inactivar las inmunoglobulinas M (Badakhsh *et al.*, 1982; Wanke, 2004).

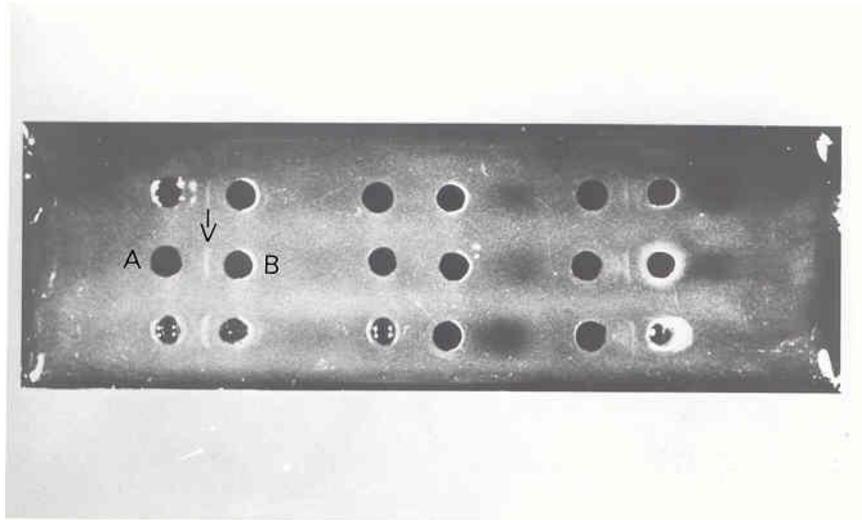
La Aglutinación lenta en tubo (TAT) es una prueba cuantitativa, utilizada generalmente para confirmar resultados de muestras positivas al SAT. Detecta anticuerpos desde la 3 a 6 semana post infección (Nicoletti y Chase, 1987; Bruce, 2006) y puede ser mejorada con 2- ME (Carmichael y

Greene, 1993). Esta prueba de TAT determina el estado de la infección, según el título de anticuerpos (Mateu-de-Antonio *et al.*, 1994).

En relación a las técnicas de precipitación, las más utilizadas corresponden a Inmunodifusión en gel de agar (AGID) y a contraelectroforesis (CIEF) (Sotomayor, 2001).

La Inmunodifusión doble en gel de agar es una técnica cualitativa que detecta anticuerpos 5 a 10 semanas post infección (Vaden, 1997), incluso cuando no se presenta bacteremia (Mateu-de-Antonio *et al.*, 1994). Utiliza antígeno LPS-R de *B. ovis* y dentro de sus desventajas, están: tiempo de lectura de 72 horas, dificultad de interpretación en animales con enfermedad crónica y, reacciones cruzadas producto del LPS-R de *B. ovis* como *Bordetella bronchiseptica* y *Pseudomonas auriginosa* (Zoha y Carmichael, 1982).

En un trabajo de inoculación experimental en perras y utilizando contraelectroforesis, con antígeno LPS-R de *B. ovis*, se detectó la presencia de anticuerpos a partir de los 18 días post-infección, manteniéndose al menos por 286 días post-infección (Borie, 2000; Sotomayor, 2001). Al comparar esta técnica con AGID, presentó un 100% de sensibilidad y un 96,82% de especificidad, y redujo hasta dos horas la obtención de resultados (Lasserre, 1984).



Fotografía Nº 1: Contrainmunolectroforesis con antígeno LPS-r de *B. ovis*. Entre el pocillo A (antígeno) y B (suero) se observa una línea de precipitación nítida característica de una muestra positiva (Fuente Borie, 2002).

La misma técnica, pero utilizando como antígeno un extracto proteico citosólico de *B abortus* cepa RB51, detectó, reacción positiva en dos perras infectadas experimentalmente, en una a contar de los 60 días postinfección y en la otra a los 81 días. Las reacciones positivas se mantuvieron durante 144 días post-infección en la primera perra y al menos hasta los 286 días en la segunda (Sotomayor, 2001).

El Enzimoimmunoensayo (ELISA) es una técnica que ha utilizado como antígenos al LPS-R de *B. canis* (Mateu-de-Antonio *et al.*, 1993; Carmichael y Shin, 1999) y, proteínas citoplasmáticas de *B. abortus* (Carmichael, 1998). En un estudio utilizando un extracto de solución salina caliente de *B. canis* cepa menos mucoide (-M), se observó un 93,8% de sensibilidad y un 95,6% de especificidad, en relación a las pruebas de SAT-2Me, TAT-2Me y, AGID (Mateu-de-Antonio *et al* 1993). También se le atribuye una disminución del número de falsos positivos, en comparación con las pruebas de aglutinación (Carmichael, 1998).

Métodos de control

Para Carmichael (1998) no han sido exitosos los intentos de desarrollar vacunas que generen una inmunidad adecuada y que no provoquen una respuesta serológica que interfiera con el diagnóstico. Por lo tanto, la principal estrategia para combatir la enfermedad es el control basado en:

- Muestrear todos los perros en reproducción, al menos anualmente, en zonas endémicas.
- Antes de introducir un perro en un criadero, se requiere por lo menos de dos muestras serológicas negativas, tomadas con un mes de separación.
 - Analizar a machos y a hembras al menos tres semanas antes del servicio, a través de pruebas de AGID y a los animales sospechosos realizar un cultivo de sangre.
- Evitar la entrada de perros callejeros a los criaderos.
- Sólo los perros serológicamente negativos, que no presentan infección, deben ser utilizados en la reproducción.
- La castración del macho o de la hembra elimina, en gran medida, el riesgo de transmisión por el perro infectado; pero, los microorganismos no son eliminados del animal.

Borie y Sánchez (2002) recomiendan que los controles serológicos se realizan previos a las cruces y, en perros sospechosos y positivos en tratamiento, cada dos a tres meses.

Carter *et al.*, (1989) y Bruce (2006) recomiendan erradicar la enfermedad mediante controles de anticuerpos en sangre, seguido del sacrificio de los perros positivos a la reacción. Sólo incorporan perros libres de brucelosis a los criaderos; esto es, aquellos que resultan negativos a por lo menos dos controles sucesivos.

Tratamiento médico

El tratamiento médico es caro y la cura difícil de alcanzar, especialmente en machos con infección crónica. Se requieren monitoreos serológicos y cultivos de sangre seriados por al menos tres meses después de terminado el tratamiento (Carmichael, 1998). Si el organismo es eliminado exitosamente, los machos frecuentemente quedan estériles por el daño irreversible en testículos y epidídimos (Carmichael, 1998). La castración en sí, no implica la eliminación de la bacteria en el animal.

Carmichael y Shin (1999) no recomiendan tratamiento para los perros de criaderos ni a aquellos que no puedan ser aislados y monitoreados con precisión después de la terapia con antibióticos. Aconsejan cultivos de sangre repetidos y monitoreos serológicos por lo menos durante tres meses pos-tratamiento, antes de ser declarados negativos. Describen que es común la reaparición de la infección después de cesado el tratamiento con antibióticos. La castración reduce el riesgo de transmisión, pero todos los perros castrados deben recibir un tratamiento de antibióticos. Para esta enfermedad recomiendan un tratamiento de cuatro semanas con tetraciclina 25mg/kg/8 horas vía oral, en conjunto a dihidroestreptomicina 10 mg/kg/12 horas vía intramuscular durante las primera y cuarta semana. El tratamiento no esta recomendado para perros de críaderos o cuando un seguimiento a largo plazo es imposible. La falla del tratamiento es común en machos infectados.

Carmichael y Greene (1993) describen que el fracaso terapéutico es atribuido a la localización intracelular de la bacteria y a la colonización de tejidos, donde la llegada de ciertas drogas es escasa. Las terapias deben ser realizadas con la asociación de dos o más antibióticos de acción intracelular y durante un periodo prolongado, no inferior a 30 días.

Wanke *et al.*, (2006) recomiendan el uso de enrofloxacin 5mg/kg/12 horas oral durante 30 días; describiendo resultados similares a los obtenidos con estreptomicina y tetraciclina o minociclina.

La recuperación de un paciente tratado se debe analizar al tercer mes de finalizada la terapia antimicrobiana, mediante la determinación seriada de anticuerpos cada tres meses por un periodo de un año. Además, sólo se deben considerar como negativos a aquellos que tengan dos controles negativos sucesivos³ (Wanke, 2004).

³ Dra. María Luisa Sánchez Chong . Comunicación personal.
Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.

OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar la seroprevalencia de brucelosis canina por *B. canis* en pacientes caninos que asisten a clínicas veterinarias del gran Santiago.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Conocer la relación entre los antecedentes reproductivos y la serología de brucelosis canina por *B. canis* en perros de clínicas veterinarias de las 34 comunas del gran Santiago
- ❖ Establecer la relación de los síntomas clínicos con brucelosis canina.
- ❖ Evaluar la información sobre brucelosis canina en los dueños de las mascotas muestreadas.

MATERIAL Y METODOS

Material

El tamaño muestral de los caninos se determinó considerando, por antecedentes bibliográficos, una prevalencia de 20% de brucelosis canina, con una probabilidad de 95% de encontrar este porcentaje de individuos positivos y, una desviación de 20% (Taucher, 1997). Esta correspondió a 384 muestras, que fueron tomadas aleatoriamente, en clínicas veterinarias establecidas de las 34 comunas del Gran Santiago. El muestreo se realizó a perros mayores de 6 meses de edad sin considerar sexo, raza, ni condición sanitaria. Junto a cada muestra se realizó una encuesta (Anexo 1) para recabar información sobre los antecedentes reproductivos del animal, signos clínicos relacionados con la enfermedad y, además, los conocimientos del propietario de la mascota sobre brucelosis canina.

Las muestras fueron divididas en cuatro grupos según edad de los animales:

Grupo 1, animales de 6 meses a menores de 1 año (de 6 meses a menores de 12 meses)

Grupo 2, animales entre 1 y 2 años (mayores de 12 meses y menores de 36 meses).

Grupo 3, animales entre 3 y 5 años (de 36 meses a menores de 72 meses).

Grupo 4, animales mayores de 6 años (de 72 meses y más).

Métodos

El diagnóstico serológico se realizó en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, desde Mayo 2002 a Diciembre 2003.

La obtención de muestras se realizó previa depilación y desinfección de la zona de venipunción, con una jeringa estéril de 5cc, extrayendo 4 a 5 ml. de sangre; la que se depositó en tubos estériles sin anticoagulante. Dentro de 24 horas las muestras fueron recolectadas y transportadas en frío, en caja térmica, hasta el laboratorio de Microbiología donde fueron centrifugadas a 2000 x g durante 10 minutos. Los sueros se envasaron en tubos Eppendorf que se conservaron a temperatura de congelación (-20°C), hasta su procesamiento. El tiempo entre recolección y procesamiento fue inferior a 21 días.

La técnica utilizada para diagnóstico fue contraelectroforesis (CIEF), con antígeno LPS-R de *Brucella ovis*, preparado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, según normas del Centro Panamericano de Zoonosis Nota técnica N° 20 (OPS/OMS, 1976). Se utilizaron porta objetos de 76 x 25 mm. (Figura N° 1), barnizados con agar, sobre los cuales se depositó tres ml. de agarosa (Sigma R) al 1% diluída en buffer stock barbital pH 8.6 (Figura N° 2). El soporte se dejó solidificar en cámara húmeda a temperatura ambiente hasta su utilización inmediata. A cada porta objeto se le realizó perforaciones en tres columnas, cada una de ellas con tres pares horizontales de perforaciones paralelas, de 3 mm. de diámetro cada una y con una equidistancia de 3 mm. entre ellas (Figura N° 3).



Figura N° 1. Porta objeto no barnizado (Dibujo no a escala)



Figura N° 2. Porta objeto barnizado con agarosa al 1% (Dibujo no a escala)

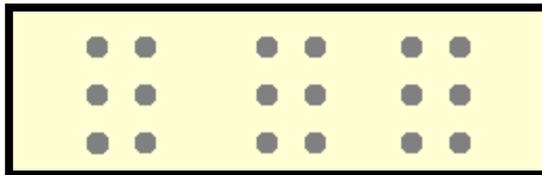


Figura N° 3. Porta objeto barnizado con agarosa al 1% y con perforaciones de 3mm. (Dibujo no a escala)

En las perforaciones del polo anódico se depositó el antígeno y en el catódico los sueros a estudiar. Una vez cargadas las placas, se depositaron en una cámara electroforética con solución buffer cubeta barbital pH 8.6. (anexo 2). En cada corrida electroforética se consideró un control positivo.

La corrida electroforética se realizó a máximo 210 v y 3 mA por cm de ancho de portaobjeto (7.5 mA x porta) durante dos horas y quince minutos. Una vez finalizada la corrida, las placas se dejaron en cámara húmeda a temperatura ambiente por 18 horas y, posteriormente, fueron sometidas a un baño con citrato de sodio al 5% durante treinta minutos para eliminar bandas de precipitación inespecíficas y mejorar la lectura de los resultados. La lectura e interpretación se realizó con luz directa sobre un fondo oscuro.

Los resultados serológicos sólo se interpretaron cuando el suero control positivo dio una reacción positiva clara (Banda de precipitación).

Posterior al procesamiento de las muestras se entregó un certificado, con el resultado a brucelosis canina, por cada animal, al médico veterinario tratante.

Para el análisis de las muestras, se utilizaron proporciones y prueba de independencia de chi cuadrado (Taucher, 1997).

RESULTADOS

A. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CONTRAINMUNOELECTROFORESIS.

Cuadro 1: Diagnóstico de brucelosis canina por *B. canis* en 384 sueros caninos, Región Metropolitana 2002-2003.

DIAGNOSTICO	Nº	PORCENTAJE %
Positivos	61	15,9
Negativos	302	78,6
Sospechosos	21	5,5
Total	384	100

Para seroprevalencia sólo se consideró los sueros positivos o negativos a la prueba diagnóstica; todos aquellos sospechosos fueron descartados.

Cuadro 2: Número y porcentaje de sueros caninos positivos y negativos a brucelosis canina por *B. canis* según sexo, región Metropolitana 2002- 2003.

SEXO	POSITIVOS		NEGATIVOS		TOTAL 100%
	Nº	%	Nº	%	
Hembras	29	14,5	171	85,5	200
Machos	32	19,6	131	80,4	163
Total	61	16,8	302	83,2	363

Cuadro 3: Número y porcentaje de sueros caninos positivos y negativos a brucelosis por *B. canis*, según grupo etario. Región Metropolitana 2002-2003.

EDAD	POSITIVOS		NEGATIVOS		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	
Menor 1 año (Grupo 1)	5	7,94	58	92,06	63
1-2 años (Grupo 2)	24	14,12	146	85,88	170
3-5 años (Grupo 3)	27	28,42	68	71,58	95
6 y más (Grupo 4)	5	14,29	30	85,71	35

B. RESULTADOS DE LA ENCUESTA

Cuadro 4. Propietarios de los caninos según conocimiento de brucelosis canina. Región Metropolitana 2002 - 2003.

CONOCIMIENTO DE LA ENFERMEDAD	Nº DE PROPUESTAS	PORCENTAJE (%)
Conoce	30	8,3%
Desconoce	333	91,7%
Total	363	100,0%

Cuadro 5. Propietarios de caninos con conocimiento de brucelosis, según signos clínicos que conocían de la enfermedad. Región Metropolitana 2002 – 2003.

SIGNOS CLINICOS DESCRITOS	Nº	TOTAL 100%
Aborto	13	43,3%
Orquitis	2	6,7%
No recuerda	15	50,0%
Total	30	100,0%

Cuadro 6. Relación entre examen serológico y sospecha clínica de brucelosis canina por el Médico Veterinario tratante. Región Metropolitana 2002 – 2003.

SOSPECHA	EXAMEN DE <i>B.canis</i>		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Sospecha clínica	15	29	44
Sin sospecha clínica	46	273	319
TOTAL	61	302	363

Cuadro 7. Número de registros y número de caninos positivos a *B. canis*, según síntoma clínico registrado por el Médico Veterinario. Región Metropolitana 2002 – 2003.

SIGNOS CLINICOS	Frecuencia de registro	Nº de positivos a <i>B. canis</i>	TOTAL 100%
Abortos	8	5	63
Orquitis	5	3	60
Discoespondilosis/ Dolor articular	4	2	50
Tumor venereo transmisible	4	2	50
Cruza sin gestación	9	3	33
Metritis	10	1	10
Secreción prepucial	1	1	100
Dermatitis escrotal	2	0	0
Uveitis	1	0	0
Total	44	17	

DISCUSIÓN

El establecimiento arbitrario de una edad mínima de seis meses para los animales muestreados en el presente estudio tuvo como objeto evitar que, los anticuerpos maternos, frente a una infección, pudieran interferir en los resultados serológicos de sus crías (Tizard, 2002; Barrouin-Melo *et al.*, 2007).

La técnica diagnóstica de CIEF aquí utilizada, es un método cualitativo que permite obtener resultados positivos o negativos; esto implica la presencia o no de una banda de precipitación asimilable al control de suero positivo que se emplea en la ejecución de la técnica. Cuando una reacción da una banda de precipitación difusa y débil, que no desaparece con citrato de sodio, su interpretación es dudosa y, su resultado, se considera sospechoso. Para dichas situaciones, se recomienda repetir la prueba no antes de 20 a 30 días, con el objeto de observar una definición en la banda de precipitación que es dada por la cantidad de anticuerpos que pueden estar en ascenso o en descenso (Borie, 2000). Bandas sospechosas también pueden ser producidas por la presencia de residuos de alimentos (leche, carne, huevos, verduras) en el suero, como ocurre cuando la muestra de sangre es obtenida sin un ayuno previo de 6 a 8 horas, es decir con lipidemia. Debido a que el muestreo correspondió a una sola toma de muestra por animal, todos aquellos sueros de resultados sospechosos, fueron descartados para los efectos de los cálculos siguientes.

La seroprevalencia de brucelosis canina obtenida en el presente estudio (16,8%), señaló un aumento en relación a cifras previas comunicadas en la misma región Metropolitana. En 1979 se describió un 11,5%, el que aumentó en cinco años (1984) a un 13,5%; ambos porcentajes correspondieron a los principales criaderos de perros (Pinochet y Borie, 1987). Una cifra mayor de 20,3% en muestras llegadas al servicio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile fue informada por Sánchez *et al.*, (2000) y de 20,5% descrita por Matamala (2006). Este porcentaje más alto estaría influenciado

por el sesgo de las muestras recibidas, que en gran medida correspondió a animales clínicamente sospechosos de brucelosis.

La brucelosis, al ser una enfermedad de transmisión sexual, implica que el macho positivo sea un diseminador más importante de la infección en la población canina por la posibilidad de realizar muchas montas a lo largo del año. En tanto, la hembra está limitada principalmente a dos periodos de celo anuales en su rol de diseminadora.

El hallazgo de una mayor positividad en machos (19,6%) que en hembras (14,5%), hizo pensar en una posible asociación de la enfermedad con el sexo; sin embargo, el tamaño de la muestra analizada no permitió evaluarlo estadísticamente. Al aplicar la prueba de independencia de chi cuadrado no se encontró asociación de brucelosis y sexo. Sin embargo el estudio de Matamala (2006) menciona mayor seroprevalencia en las hembras (20,6%) que en machos (18,9%), esta diferencia puede estar dada por que las muestras analizadas por Matamala (2006) correspondieron a animales con sospecha clínica de enfermedad o por medida sanitaria precautoria previa a una cruce dirigida, en cambio, las muestras de este estudio fueron tomadas aleatoriamente; sin embargo, concuerda con lo obtenido por Carcamo (1994), quien obtuvo una mayor prevalencia en machos (11,9%) que en hembras (5,2%) donde también el muestreo fue aleatorio.

De acuerdo a la estratificación por edad de los animales analizados, en esta memoria, llama la atención que el mayor número de animales muestreados correspondió a la población del grupo N° 3 (3 a 5 años de edad), 233/363 y, aunque no existen cifras oficiales, esta información podría asimilarse a los datos entregados por Ibarra *et al.*, (1997) quienes señalan que la vida media de la población canina en Santiago corresponde a 3 años.

En relación a la prevalencia, según la prueba de independencia de chi cuadrado, la enfermedad está asociada con la edad, siendo mayor en el

grupo 3; esto sería por el resultado de una enfermedad de carácter crónico con bajas posibilidades de éxito terapéutico. Sin embargo, de acuerdo a esto, los animales del grupo 4 correspondientes a mayores de 6 años deberían haber tenido una prevalencia aún mayor. La disminución encontrada en este grupo se podría explicar por la mayor preocupación y cuidados por parte de los propietarios con sus mascotas. Por otra parte, debe considerarse que a medida que el curso de la brucelosis del perro se prolonga en el tiempo, puede disminuir la cantidad de anticuerpos debido a la cronicidad de la enfermedad (Carmichael y Greene, 1993). Esto también podría influir en la detección de anticuerpos en estos animales mayores, donde teóricamente existirían falsos seronegativos. Esto se contrapone a lo obtenido por Matamala (2006) quien obtuvo una mayor prevalencia en animales mayores de ocho años (36,1%); esta diferencia puede estar dada por el tipo de muestra empleada en cada estudio. Pero concuerda con lo obtenido por Carcamo (1994) quien obtuvo la mayor prevalencia en los animales de 2 a 5 años (20,8% y 22,2% respectivamente).

Al analizar los resultados de la encuesta en relación con el conocimiento de los propietarios de las mascotas sobre brucelosis canina, se encontró un bajo porcentaje.

Debe agregarse que la mitad de los propietarios que manifestaron algún conocimiento sobre la enfermedad, no pudo señalar al menos un signo de ésta. Entre aquellos que sí la conocían, el signo más mencionado correspondió al aborto. Esta situación de desconocimiento explicaría en parte el aumento de la prevalencia de positividad en el tiempo, y se puede considerar como una alerta para la educación de los propietarios, especialmente ante futuros proyectos de control de la brucelosis canina.

Sobre el predominio de algunos signos clínicos en los animales positivos, en las hembras el aborto presentó mayor positividad, y en los machos se presentó orquitis con mayor frecuencia. En ambos sexos una característica a resaltar fue la infertilidad.

Se ha descrito a la brucelosis canina como una enfermedad que produce un cuadro subclínico con predilección por el tracto genitourinario. De allí, la inquietud sobre conocer el acierto clínico de los Médicos Veterinarios de la Región Metropolitana dedicados a la clínica de animales pequeños, ante esta enfermedad. La comparación entre la sospecha clínica con los aciertos de seropositividad, nos señala sólo fue exitosa en un 34,1% (15/44) que corresponde al valor predictivo del médico veterinario a diagnosticar la enfermedad por signos clínicos. Considerando a los 61 animales positivo, 15 fueron diagnosticados por el médico veterinario esto corresponde a un 24,5% de sensibilidad por parte del médico veterinario a diagnosticar los verdaderamente positivos; y si observamos a los 302 negativos, 273 fueron estimados por el médico veterinario, esto nos señala un 90% de especificidad a establecer los negativos por parte de veterinario tratante (Cuadro 6). Aunque no existen antecedentes en la literatura que hagan comparable esta cifra, vale señalar que prima el carácter asintomático de la enfermedad por sobre el aborto en hembras y la orquitis en machos (Cuadro 7). Otros signos informados, y con más bajo acierto, correspondieron a discoespondilosis, dolor articular, tumor venéreo transmisible y, cruza sin gestación. Por lo tanto, con la excepción de lesiones articulares, los signos atribuidos a brucelosis canina involucraron especialmente al tracto reproductivo, coincidiendo con lo señalado por Carmichael y Greene (1993), Carmichael (1998), Carmichael y Shin (1999), Borie (2000), Borie y Sánchez (2002), Azevedo *et al.*, (2003) y Briseño *et al.*, (2004).

Cuando se tomó el antecedente de seropositividad a brucelosis canina con la sospecha clínica dada por el veterinario tratante (Cuadro 6), se encontró que el 75,4% (46/61) de las muestras positivas no presentó signos de brucelosis canina; lo que refuerza la necesidad de requerir mayor número de exámenes de laboratorio, incluyendo a los caninos asintomáticos.

La información proporcionada por veterinarios en la encuesta, en relación a otros signos clínicos de sospecha de brucelosis, señaló a cuatro animales con antecedentes de callejeros o de confinamiento parcial; de los

cuales, tres resultaron seropositivos. A pesar de su escaso número, este último resultado coincide con antecedentes internacionales que señalan, prevalencias mayores en los animales sin confinamiento o de confinamiento parcial por sobre aquellos de confinamiento total (Flores-Castro *et al.*, 1977; Mendez *et al.*, 1998; Moraes *et al.*, 2002).

Cabe destacar un pequeño porcentaje, de animales resultaron positivos (7,9%) y sin antecedentes de cruza previa; valor casi similar al obtenido por Matamala (2006) (8,2%); esto puede confirmar la presencia de transmisión *in útero* como lo señalan Carmichael y Greene (1993); y a la necesidad de solicitar exámenes de brucelosis canina a todos los animales que sean destinados a cruza, independiente que presenten de cruza previas.

Los cuatro animales que se informaron con exámenes previos de brucelosis canina habían sido analizados por técnica de contrainmunolectroforesis. Los resultados con esta prueba fueron uno sospechoso, y tres negativos. Al presente estudio, todos los individuos dieron resultados negativos; lo que podría explicarse como resultado de un tratamiento antibiótico y castración previa, esto provocaría una menor cantidad de bacterias en circulación y por consiguiente una baja inducción de anticuerpos no detectables por la técnica diagnóstica utilizada, o simplemente hubo una remisión completa, lo que según la literatura revisada es poco probable (Carmichael y Greene, 1993; Carmichael, 1998).

Dadas las características de la brucelosis canina, es recomendable realizar exámenes sanguíneos previos a cada cruza. Además en animales sospechosos se deben realizar chequeos cada dos meses y obtener tres exámenes seguidos negativos. En mascotas en tratamiento, realizar chequeos al mes de terminado este y posteriormente cada dos meses hasta obtener tres exámenes seguidos negativos⁴. En aquellos animales que

⁴ Dra. María Luisa Sánchez Chong. Comunicación personal.
Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.

luego del tratamiento y en controles periódicos finalmente resulten positivos se recomienda realizar castración e incluso eutanasia para evitar la diseminación de la enfermedad (Carmichael, 1998). De acuerdo a las características de la enfermedad los programas de control deberían estar basados, en las cruces responsables sólo entre animales seronegativos (Carmichael, 1998).

Los resultados generales de este trabajo indican que la brucelosis canina en la Región Metropolitana, será una enfermedad cada vez más prevalente de no mediar normas serias de control que impliquen mejorar los métodos de diagnóstico y el desarrollo de campañas educativas hacia los propietarios de caninos. Si no se crean estos programas de control aumentaran los costos económicos por tratamientos prolongados y poco eficaces, la pérdida de reproductores en criaderos y, el riesgo zoonótico, sobre el cual ya se conoce de personas enfermas en la Región.

CONCLUSIONES

La seroprevalencia de brucelosis canina por *B. canis* fue de 16,8% en el Gran Santiago.

El mayor porcentaje de positivos se observó en los animales mayores de 3 años y menores de 5 años.

Los signos clínicos más frecuentes de animales positivos a brucelosis canina fueron el aborto en hembras y orquitis en machos.

Hubo un 24,5% de sensibilidad por parte del Médico Veterinario a diagnosticar animales positivos y un 90% de especificidad a establecer los negativos.

El valor predictivo entre sospecha clínica de brucelosis canina por *B.canis* y seropositividad fue de 34,1%.

Existe escaso conocimiento de los propietarios de mascotas sobre la brucelosis canina (4,2%)..

BIBLIOGRAFIA

- **AZEVEDO, S.; VASCONCELLOS, S.; ALVES, C.; KEID, L.; GRASSO, L.; MASCOLLI, R.; PINCHEIRO, S.** 2003. Inquérito serológico e factores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em caes do município de Santana de Paranaíba, Estado de Sao Paulo.[en línea] <<http://www.Scielo.br/pdf/pvb/v.23n4/18730pdf>>[consulta:10-04-2004].
- **BADAKHSH F.; CARMICHAEL L.; DOUGLAS J.** 1982. Improved rapid slide agglutination test for presumptive diagnosis of canine brucellosis. J. Clin. Microbiol., 15: 286-289.
- **BARROUIN-MELO, S; PADILLA, F.; BORGES, M.; COSTA DE ALCANTARA, A.; PALIS, P.; NASCIMENTO, I.; SCHAEER, R., MEYER, N.; MENEZES, S.** 2007. Diagnosis of canine brucellosis by ELISA using antigen obtained from wild *Brucella canis*. Research in Veterinary Science.
- **BLASCO, J. ; GAMAZO C.** 1994. Brucellosis Animal. Invest. Ciencia. 11: 56-62.
- **BORIE, C.** 2000. Brucellosis canina por *B. canis*. In: De los Reyes, M.; Sánchez A. Tópicos en reproducción en pequeños animales. pp 107-123.
- **BORIE, C; SANCHEZ, M. L.** 2002. Brucellosis en el perro. Tecnovet 8 (1): 13-15.
- **BORIE, C.; CEPEDA, R.; VILLARROEL, M.; DE LOS REYES, M.** 2002. Descripción de características reproductivas en tres perros seropositivos a *Brucella canis*.[en línea] [httpscielo.cl/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0301-732X2002000100012&In...](http://scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0301-732X2002000100012&In...) [consulta:19-03-2004].

- **BOWDEN, R.** 1996. Género *Brucella*. *In*: Temas de Microbiología Veterinaria. Stanchi, N. O. Ed. Ediciones Sur la Plata. República Argentina. pp 341-367.

- **BRISEÑO, H.; PARAMO, R.; FLORES-CASTRO, R.; SUAREZ, F.** 2004. Problemas Reproductivos en perros infectados con *Brucella canis*. Facultad de Veterinaria y zootecnia, Universidad Autónoma de México. [en línea]<<http://www.Fmvz UNAM.m/fmvz/revvet mex./a 2004/rvmv35n2/rvm35204.pdf>>[consulta:15-10-2004].

- **BRUCE, R. 2006.** Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology* 66. pp 575- 587.

- **CARCAMO, O.** 1994. Diagnóstico serológico de *B. abortus* y *B. canis* en personas de una comuna del Sur de Chile. Tesis Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 31p.

- **CARMICHAEL, L.** 1998. Brucelosis canina causada por *B. canis*: Enfermedad clínica : problemas en inmunodiagnóstico. XXII Congr. Asoc. Med. Vet. Peq. Anim. Buenos Aires. Argentina. 327-331.

- **CARMICHAEL, L.; GREENE, C.** 1993. Brucelosis canina. *In*: Greene, C. Enfermedades infecciosas de los perros y de los gatos. Interamericana, McGraw-Hill. USA. 1ªed. pp.604-616.

- **CARMICHAEL, L.; GREENE, C.** 1998. Brucelosis canina. *In*: Greene, C. Enfermedades infecciosas de los perros y de los gatos. Interamericana, McGraw-Hill. USA. 3ªed. pp.712-734.

- **CARMICHAEL, L.; SHIN, S.** 1999. Brucelosis canina causada por *B. canis* In: Diagnostic Laboratory and Baker Institute for Animal Health, College of Veterinary Medicine , Cornell University. Ithaca, New York, USA. [en línea] < [http// www.ivis.org/ advances/Infect Dis Carmichael/Shin_es/chapter _frm.asp?LA=2](http://www.ivis.org/advances/InfectDis/Carmichael/Shin_es/chapter_frm.asp?LA=2)>[consulta :15-10-2004].

- **CARMICHAEL, L.; FLORES- CASTRO, R. : ZOHA, S.** 1980. Brucellosis caused by *Brucella canis*: an update of infection in animals and in humans. World Health Organization.WHO/ BRUC/ 80.361

- **CARTER, G.; CLAUS, W.; RIKIHISA, Y.** 1989. *Brucella In*: Fundamentos de Bacteriología y Micología Veterinaria. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. pp 213-218.

- **CASTILLO, V.; COTRINO, 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 (sede Bogotá).[en línea] [http://lmvlt-da.com/programas /ar14.html](http://lmvlt-da.com/programas_ar14.html)> [consulta:17- 06-2004].

- **CORBEL, M.; BRINLEY-MORGAN, J.; MORGAN, W.** 1984. Genus *Brucella*. In: Bergey`s manual of sistematic bacteriology. Krieg, N R; Holt J.G. ed vol.1:Baltimore. USA. Williams and Wilkins, pp 377-388.

- **FREDRICKSON, L.; BARTON, C.** 1974. A Serologic Survey for *Canine brucellosis* in a Metropolitan Area. Am. J. Vet. Med. Asoc. 165. (11). 987-989.

- **FLORES-CASTRO, R.; SUAREZ, F.; RAMIREZ- PFEIFFER, C.; CARMICHAEL, L.** 1977. Canine Brucellosis: Bacteriological and Serological Investigation of Naturally Infected Dog in México City. J. Clin. Microbiol. 6: 591-597.

- **HAGAN, W; BRUNER, D.** 1988. Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. Eighth edition. Published by Cornell University Press, 951pp.

- **HUBBERT, N.; BETCH-NIELSEN S.; BARTA, O.** 1980. Canine brucellosis. Comparison of clinical Manifestacions with Serologic test results. Am. J. Vet. Med. Assoc. 177 (2): 168-171.

- **IBARRA, L.; CISTERNAS, P.; VALENCIA, J.; MORALES, M.** 1997. Indicadores poblacionales en caninos y felinos y existencias de otras especies domésticas en la comuna de El Bosque, Región Metropolitana, Chile. Avances en Ciencias Veterinarias 12 (2): 80-84.

- **IBARRA, L.** 1999. Existencias de perros y gatos en la ciudad de Santiago. Tecnovet. 5 (2): 11-13.

- **JAWESTZ, E.; MELNICK, J.; ALDERLBERG, E.** 1981. Los bacilos Gram negativos pequeños. *In:* Manual de Microbiología Médica 9ª edición. Editorial El Manual Moderno S. A. México 11 D. T. pp 234-236.

- **LASSERRE, M.** 1984. Brucelosis canina. Diagnóstico comparativo entre doble difusión en gel agar y contraimmunoelectroforesis. Memoria de Título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. 38p.

- **MATAMALA, L.** 2006. Estudio Descriptivo de diagnósticos realizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica Veterinaria de la Universidad de Chile, periodo 1995 a 2002. Memoria de Titulo. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.63p.

- **MATEU-DE-ANTONIO, E.; MARÍN, M; SOLER, M.** 1993. Use of indirect enzyme-linked immunosorbent assay with hot saline extract of a variant (M-) strain of *Brucella canis* for diagnosis of Brucella in dog. Am. J. Vet. Res. 54: 1043 -1056.

- **MATEU-DE-ANTONIO, E.; MARTÍN, M.; CASAL, J.** 1994. Comparision of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. J Vet. Diagn. Invest 6: 257-259

- **MÉNDEZ, G.; MOTA, E.; DÍAZ, E.; MONROY, J.** 1998. Seguimiento de un brote de *Brucella canis* en un criadero de la ciudad de México. [en línea]><http://www.com/Heartland/Park/1697/brucella1.htm>.>[consulta:15-10-2004].

- **MEYER, M.** 1990. *Brucellae In: Review of Veterinary Microbiology.* Biberstein, E; Zee, Y.ed. Blackwell Scientific Publications. USA: pp 250- 258.

- **MORAES, C.; MEGID, J.; SOUZA, A.; CROCCI, A.** 2002. Prevalencia a brucelose canina na microrregiao da Serra Botucatu, Sao Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. Sao Paulo, 69, (2), 7-10,

- **MORALES, M. ; URCELAY, S.; NUÑEZ, F.** 1993. Caracterización de la población canina en la comuna de Santiago. Av. Cs. Vet. 8 (1): 29-32

- **MURRAY, P.; KOBAYASKY, G.; PFALLER, M.; RESENTHAL, K.** 1997
Microbiología médica, 2ª ed., edide, S. L. España, 755 p.
- **NICOLETTI, P.; CHASE, A.** 1987. The use of antibiotic to control canine brucellosis. *Compend. Cont. Educ.* 9: 1063-1066.
- **NAHED, H.; GEORGE, T.** 1984. Serological Epidemiology of *Brucella canis* in a hospitalized and Referral Population of Dog and Cat in Illinois. *CANINE PRACTICA*. Vol. 11. Nº 1. p17-27.
- **OPS/OMS.** Oficina Panamericana de la Salud- Organización mundial de la salud. 1976. Técnica de difusión en gel de agar para el diagnóstico de la epididimitis de los carneros. Nota técnica Nº 20.
- **PERES, J.; MARIA DE GODOY, A.; BARG, L.; COSTA, J.** 1981. Isolamento de *Brucella canis* de Garrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*). *Arq. Esc. Vet. UFMG. Belo Horizonte*, 33(1): 55-55.
- **PINOCHET, L.; MORA, L.; SÁNCHEZ, M. L.; CONTRERAS, C.** 1979. Investigación Serológica Canina en Criaderos del Área Metropolitana. II Congr. Nac. de Med. Vet. Valdivia Chile 37.
- **PINOCHET, L.; BORIE, C.;** 1987. Brucelosis canina: Conceptos generales y estudios realizados en el país. *Monog. Med. Vet.*, 9: 70-78.
- **RUSSELL, W.; WILLIAM, F.; RUSSELL. J.; MORRIS, E.** 1982 Canine Brucellosis. *J.A.V.M.A.* 180 (2): 132-133.
- **SÁNCHEZ, M. L.; CASTILLO, D.; PINOCHET, L.; ABALOS, P.; LASSERRE, M.** 1986. Utilización de dos técnicas serológicas diagnósticas en brucelosis canina. Res. VI Congr. Nac. Med. Vet., Santiago SA.147

- **SÁNCHEZ, M. L.; VILLARROEL, M.; BORIE, C.**, 2000. Detección de Anticuerpos contra *B. canis* en perros y dos casos en humanos. Res. XVII Congr. Chil. Infect., Viña del Mar. 81 p.

- **SANCHEZ, M. L.; MATAMALA, L.; BORIE, C.; MORALES, M.** 2006. Estudio descriptivo de diagnósticos realizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica Veterinaria de la Universidad de Chile. Periodo 1995 a 2002. XXª Congreso Panamericano Ciencias Veterinarias / XIVº Congreso Chileno de Medicina Veterinaria. Abstrac. Nª497. Nov 2006. Santiago- Chile

- **SOTOMAYOR, C.** 2001. Diagnóstico de brucelosis canina: Utilización de un antígeno proteico citosólico de *Brucella abortus* cepa RB51 en perros infectados experimentalmente. Memoria de Título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.50 p.

- **TAUCHER, E.** 1997. Bioestadística. Determinación del tamaño de la muestra. Ed. Universitaria. Santiago de Chile pp. 125-126.

- **TIZARD, I.** 2002. Inmunidad en el feto y neonato. *In*: Inmunología Veterinaria. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana 6º ed. pp. 227- 239.

- **URCELAY, S.; Di SILVESTRI, F.** 1990. Demografía en caninos y felinos de Chile y publicaciones extranjeras. Monografías de Medicina Veterinaria 12: 45-53.

- **VADEN,** 1997. Canine brucellosis *In*: Small animal internal medicine North Caroline State University School.U.R.L. [en línea] <<http://nbb.emory.edu/saint/brucellosis.html>>[consulta:15-03-2003]

- **WANKE, M.** 2004. Canine Brucellosis. Animal Reproduction Science.82-83: pp 195-207.

- **WANKE, M.; DELPINO, M.; BALDI, P.** 2006. Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog Kennel (clinical trial). *Theriogenology* 66. pp 1573-1578.

- **ZAMORA, J.; ALONSO, O.; MARTÍN R.** 1980. Brucelosis canina en Valdivia. Chile. *Zentralbl. Veterinarmed.* 27:149.

- **ZOHA, S.; CARMICHAEL, L.** 1982. Serological response of dog to cell wall and internal antigens of *Brucella canis*. *Vet. Microbiol.* 7: 35- 50.

ANEXO 1

ENCUESTA BRUCELOSIS CANINA

Clínica veterinaria:

Dirección:

Teléfono:

Comuna:

Médico veterinario:

PACIENTE

Tiempo última comida:.....

Sexo M..... Edad..... Tamaño: Grande.....
H..... Mediano.....
Chico.....

Esterilizado Si.....
No..... ¿Origeno camada? No.....
Si... Viva.....
Muerte parcial.....
Muerte total.....

CLIENTE

¿Sabe que es la brucelosis? No.....
Si..... Nombre algunos
Signos clínicos:.....

Diagnostico previo de brucelosis No.....
Si.....Resultado de laboratorio:
Positivo
Negativo.....

MÉDICO VETERINARIO

Sospecha Clínica No.....
Si.....
Discoespondilosis No..... Si....
Otra alt. Articular No...Si....
Nómbrela.....
Anomalia testicular No Si.....
Nómbrela.....

Otros signos clínicos.....

ANEXO 2

- Buffer stock barbital pH 8.6:

- Buffer stock barbital HCl 0.1M pH 8.6
- Barbital sodico 20.6 gr.
- Agua destilada 700ml., HCl 0.1 M.

-Buffer cubeta barbital pH 8.6

- Solución buffer stock barbital 1:2 en agua destilada.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA POR *B. canis* EN CLINICAS VETERINARIAS DEL GRAN SANTIAGO 2002-2003

VÍCTOR HUGO GÓMEZ REYES

Memoria para optar al título
 Profesional de Médico Veterinario
 Departamento de Medicina
 Preventiva Animal

NOTA FINAL:.....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA: MARÍA LUISA SÁNCHEZ CHONG
PROFESOR CONSEJERO: ALICIA VALDES OLGUÍN
PROFESOR CONSEJERO: CONSUELO BORIE POLANCO

SANTIAGO, CHILE
2007



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA POR *B.*
canis EN CLINICAS VETERINARIAS DEL GRAN
SANTIAGO 2002-2003**

VÍCTOR HUGO GÓMEZ REYES

Memoria para optar al título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: MARÍA LUISA SÁNCHEZ CHONG

SANTIAGO-CHILE
2007