



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

**SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN PERROS CON
DUEÑO DEL GRAN SANTIAGO Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS
A SU PRESENTACIÓN.**

FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ VEGA

Tesis para optar al grado de Magíster en
Ciencias Animales y Veterinarias y Título
profesional de Médico Veterinario.

Departamento de Medicina Preventiva
Animal.

PROFESOR GUÍA: PEDRO ÁBALOS PINEDA.
UNIVERSIDAD DE CHILE.

SANTIAGO, CHILE
2017

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a cada una de las personas que ha estado presente en este largo proceso universitario, que me han apoyado y han creído en mí siempre y han hecho que este camino sea un poco más fácil de lo que pudo haber sido.

- En primer lugar, a mis padres. Gracias a ellos, a su apoyo, a su amor, a sus consejos y principalmente a sus sacrificios, he podido lograr las metas que me he impuesto y ser una persona completa y feliz.
- A mis hermanos, los cuales siempre han estado a mi lado, me han aconsejado y enseñado y que han sido fundamentales, desde pequeño, en este largo proceso.
- A mi polola y mis amigos; que siempre han estado ahí cuando los he necesitado y que han sido fundamentales en mi vida.
- Al Dr. Pedro Abalos, por su apoyo, por darse el tiempo de enseñarme cuando no sabía y por siempre estar ahí cuando lo necesité, pero principalmente por creer en mí y en este trabajo.
- A Karina Saadi, por capacitarme y ayudarme en el trabajo de laboratorio.
- A mis profesores correctores, Dra. Consuelo Borie, Dr. José Manuel Yáñez, Dr. Santiago Urcelay, por darse el tiempo de corregir mi trabajo y guiarme en el siguiente paso a seguir.
- Al Dr. Raúl Alegría, por ayudarme en la interpretación de los datos obtenidos.
- A Ángelo González, por su ayuda en estadística.
- A los auxiliares del departamento, por siempre disponer del material necesario para el desarrollo de mi trabajo de laboratorio.

Agradecimientos especiales

Además, agradezco la colaboración de las diferentes entidades que me facilitaron y me prestaron su ayuda en la obtención de las muestras y las encuestas, las cuales hicieron posible la realización de esta tesis. Además, agradecer su buena disposición, interés y por sobre todo su simpatía y hospitalidad.

En primer lugar, a todas las personas pertenecientes a los diferentes centros veterinarios y de esterilización y a las direcciones y departamentos de las diferentes municipalidades:

- Departamento de Control Ambiental. Ilustre Municipalidad de Recoleta.
- Departamento de Higiene Ambiental y Zoonosis. Ilustre Municipalidad de Independencia.
- Dirección de Medio Ambiente, Aseo y Ornato. Ilustre Municipalidad de la Florida.
- Dirección de Inspección. Departamento de Planificación y Fiscalización Ambiental. Ilustre Municipalidad de Maipú.
- Programa de Higiene Ambiental, Departamento de Aseo y Ornato. Ilustre Municipalidad de Quinta Normal.
- Dirección de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Lo Prado.
- Departamento de Higiene y Control Ambiental. Ilustre Municipalidad de Cerro Navia.
- Departamento de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Puente Alto.
- Dirección Aseo y Ornato, Unidad de Zoonosis. Ilustre Municipalidad de La Reina.
- Dirección de Medio Ambiente, Aseo, Ornato e Higiene Ambiental, Unidad de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Quilicura.
- Dirección de Medio Ambiente, Aseo y Ornato. Ilustre Municipalidad de Pedro Aguirre Cerda.

- Dirección de Zoonosis. Ilustre Municipalidad de Huechuraba.
- Departamento de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Las Condes.
- Departamento de Salud Ambiental. Ilustre Municipalidad de La Pintana.
- Dirección de Medio Ambiente, Aseo y Ornato, Departamento de Zoonosis. Ilustre Municipalidad de Renca.
- Departamento de Higiene y Medio Ambiente. Ilustre Municipalidad de Pudahuel.
- Departamento de Desarrollo Ambiental, Dirección de Gestión Ambiental. Ilustre Municipalidad de Lo Espejo.
- Dirección de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de La Granja.
- Departamento de Zoonosis. Ilustre Municipalidad de Conchalí.
- Dirección de Desarrollo Comunitario. Departamento de Salubridad Pública. Ilustre Municipalidad de Estación Central.
- Departamento de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de San Miguel.
- Dirección de Medioambiente, Aseo y Ornato. Departamento de Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Lo Barnechea.
- Dirección de Aseo y Ornato. Departamento de Aseo. Ilustre Municipalidad de San Bernardo.
- Departamento de Zoonosis e Higiene Ambiental. Ilustre Municipalidad de Peñalolén.

También agradezco la colaboración de las diferentes entidades privadas, fundaciones y centros veterinarios pertenecientes a universidades que participaron en la recolección de muestras:

- Clínica Veterinaria Vethealth.
- Centro Veterinario Vitanimal.
- Hospital Clínico Veterinario Universidad de Chile, Sede Bilbao.
- Clínica Veterinaria Lo Ovalle.
- Clínica Veterinaria Uruguay
- Centro de Atención Veterinaria Aurora.
- Fundación Rima.
- Dr. Erick Arancibia.
- Dr. Santiago Gaviola.
- Clínica Veterinaria C.I.A.M.
- Veterinaria Centro de Esterilización Mariola.
- Centro Veterinario UPV, Municipalidad de La Florida.
- Centro Veterinario UNICIT, Cerro Navia.

ÍNDICE

RESUMEN	- 1 -
INTRODUCCIÓN	- 2 -
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	- 4 -
Generalidades de <i>Brucella canis</i>	- 4 -
Sintomatología de Brucelosis en perros.....	- 5 -
Epidemiología e importancia de la Brucelosis canina en Salud Pública.....	- 7 -
Método diagnóstico para Brucelosis canina	- 12 -
Población canina en el Gran Santiago	- 14 -
Factores de Riesgo.....	- 17 -
HIPÓTESIS	- 19 -
OBJETIVO GENERAL	- 19 -
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	- 19 -
MATERIALES Y MÉTODOS.....	- 20 -
RESULTADOS	- 25 -
1) Determinación de la seroprevalencia de brucelosis canina en perros del Gran Santiago, a través de la prueba de ELISA Indirecto	- 25 -
2) Determinación de los factores de riesgos asociados a la presentación de la infección de brucelosis canina.....	- 28 -
A) Resultados de la encuesta.....	- 28 -
B) Determinación de los factores de riesgos asociados a la presentación de la infección de brucelosis canina.....	- 29 -
DISCUSIÓN:	- 31 -
CONCLUSIÓN.....	- 39 -

BIBLIOGRAFÍA.....	- 40 -
ANEXOS.....	- 46 -
Anexo 1 (Encuesta).....	- 46 -
Anexo 2.....	- 48 -
Anexo 3.....	- 49 -
Anexo 4.....	- 51 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de comunas por zonas del Gran Santiago. Muestras totales y positivas obtenidas por comunas.....	24
Tabla 2: Número de sueros caninos positivos distribuidos por zonas e importancia de los estratos según relación perro/vivienda de las comunas que las conforman.....	25
Tabla 3: Número y porcentaje de respuestas por cada una de las variables independientes cualitativas del estudio.....	26
Tabla 4: Tabla resumen de las variables independientes cuantitativas del estudio.....	27
Tabla 5: Modelo de regresión logística múltiple, con 392 muestras y un valor $p \leq 0,05$	28
Tabla 6: Comparación en los valores obtenidos con 392 y 449 muestras, de las variables independientes consideradas en el estudio.....	46
Tabla 7: Modelo de regresión logística múltiple, incluyendo la variable “Adquisición comprados”, con 392 muestras.....	46

RESUMEN

Se determinó la seroprevalencia de brucelosis canina, producida por *Brucella canis*, en perros con dueño, con el fin de conocer la realidad de esta infección en el Gran Santiago. Para ello se muestrearon 449 perros pertenecientes a las 34 comunas que lo conforman, de ambos sexos y mayores a 6 meses de edad, los cuales fueron distribuidos por zonas (centro, norte, sur, oriente, poniente). A estos perros, se les extrajo una muestra sanguínea, las cuales se analizaron a través de la técnica de ELISA indirecto, utilizando como antígeno un lipopolisacárido rugoso (LPSR) de *Brucella abortus* RB51. Junto con la obtención de las muestras, se realizó una encuesta, con el fin de asociar la positividad a la infección de *B. canis* a factores de riesgo, mediante un modelo de regresión logística múltiple.

Se obtuvieron 40 muestras positivas, lo que representa una seroprevalencia corregida por estrato de 8,7%; EE= 2,8% (IC: 5,9% - 11,5%) en el Gran Santiago, la mayoría provenientes de centros de esterilización municipales (74% del total), siendo la zona sur y poniente las de mayor importancia. De las 449 muestras totales, sólo 392 muestras fueron consideradas para identificar los factores de riesgo, ya que las 57 muestras restantes no presentaron información sobre la variable "Número de cruces que ha tenido". Las variables independientes "Edad (en años)" (O.R.= 1,18), "Total de perros que viven juntos" (O.R.= 1,12) y "Número de cruces" (O.R.= 1,37) fueron significativas y consideradas factores de riesgo.

Con los resultados de este estudio se concluye que el 8,7% de los perros con dueños del Gran Santiago se infectaron con *Brucella canis*, infección que se asoció positivamente a la edad, al número de perros que cohabitan y al número de cruces, lo que recalca la importancia que implica el control de brucelosis canina por *B. canis* en salud pública, principalmente a través de la esterilización temprana de las mascotas, por ser una enfermedad zoonótica y por el hecho de que las muestras se obtuvieron de pacientes clínicamente sanos.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, que produce elevadas pérdidas a la ganadería y serios problemas a la Salud Pública (Abalos, 2010). Es producida por bacterias del género *Brucella*, cocobacilos pequeños que se presentan aislados o en pequeños grupos, Gram negativos, patógenos intracelulares facultativos, aerobios sin cápsula ni espora, con una pared celular conformada en su capa externa por lipopolisacáridos (LPS) (Young, 2006). En los últimos 20 años, se ha incrementado de 6 a 10 el número de especies que conforman el género *Brucella*, el cual podría seguir aumentando a través de los años (Godfroid *et al.*, 2011). Algunas de estas especies presentan biotipos, los que se diferencian por características específicas, metabólicas, bioquímicas y serológicas. *Brucella abortus*, por ejemplo, se le reconocen 9 biotipos; a *B. melitensis* 3 biotipos, y *B. suis*, 4 biotipos. *B. ovis*, *B. canis* y *B. neotomae* no tienen biotipos específicos (Young, 2006 y Noyma *et al.*, 2009).

La brucelosis canina, causada por *Brucella canis*, es una causa importante de falla reproductiva, especialmente en criaderos de perros (Spickler, 2009). Otras especies de *Brucella* están ocasionalmente asociadas con la infección en el perro, entre las que se encuentran *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* (consideradas *Brucella* clásicas), provocando abortos, mortinatos, epididimitis, orquitis y anomalías espermáticas en perros (Spickler, 2009). El organismo es fácilmente transmitido a otros perros y puede ser eventualmente transmitido a los humanos, siendo esta infección poco común. Además, se han encontrado anticuerpos de *Brucella canis* en otros carnívoros (Carmichael, 2000 y Spickler, 2009).

La detección de anticuerpos es el método de diagnóstico más utilizado para detectar brucelosis canina. Sin embargo, estas pruebas no han sido evaluadas de manera crítica y pueden proporcionar resultados falsos positivos (Hartmann y Greene, 2007).

El cultivo, si es positivo, es el único modo definitivo de diagnosticar la brucelosis. Sin embargo, pueden aparecer resultados negativos en perros con infecciones

crónicas y bacteremia intermitente. La bacteremia se detecta 2 a 4 semanas después de la infección oronasal y, si no se trata, puede persistir hasta 5 años (Hartmann y Greene, 2007).

A pesar que el impacto económico no es tan importante como el generado por las *Brucella* clásicas, tanto las pérdidas que genera en criaderos comerciales, el costo social producto de la enfermedad en el hombre y un costo tan difícil de valorizar como es el afectivo no pueden minimizarse. Otro factor de gran interés es la rápida capacidad de diseminación, no sólo debida a las características propias de la bacteria, sino también al gran movimiento de la población canina dentro y fuera de los límites nacionales. Para el Gran Santiago, el cual consta de 34 comunas de la Región Metropolitana y donde se estima una población canina sobre el millón de individuos, el tener información sobre la prevalencia y los factores de riesgo asociados a esta infección, es importante para conocer el problema real al cual nos enfrentamos con el fin de controlar la infección y posterior enfermedad.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Generalidades de *Brucella canis*

El género *Brucella* pertenece a las proteobacterias A, un grupo que contiene especies bacterianas con una amplia variedad de estilos de vida, incluidas la simbiosis con plantas y animales, como también bacterias intracelulares facultativas u obligadas y patógenos extracelulares, como lo son *Rickettsia* y *Agrobacterium* (Noyma *et al.*, 2009).

Brucella spp., son cocobacilos pequeños, patógenos intracelulares facultativos, Gram negativos, aerobios sin cápsula ni esporas que se encuentran estrechamente relacionadas entre sí. Estos organismos pertenecen al género *Brucella* y causan la brucelosis, una enfermedad con características clínicas variables que son fuertemente dependientes de la bacteria y de la especie hospedadora (Young, 2006 y Noyma *et al.*, 2009).

La pared celular está conformada por una capa externa, de un grosor aproximado de 9 nm., conformada por lipopolisacáridos (LPS), los cuales constan de un polisacárido-O distal unido al lípido-A que ancla el complejo en la membrana celular externa, siendo el mayor componente de la superficie de *Brucella spp* (Young, 2006). El polisacárido-O contiene muchos epitopos, incluidos el antígeno A que predomina en *B. abortus* y el antígeno M, el cual predomina en *B. melitensis*. El epitopo C está presente en todas las *Brucella* con lipopolisacárido liso (SLPS), lo que explica la reacción cruzada de todas ellas (Young, 2006). Además, la presencia de perosamina en ellas explica también la reacción cruzada con otras bacterias Gram negativas, tales como *Escherichia coli* O:157, *Salmonella* O:30, *Vibrio cholerae* y *Yersinia enterocolitica* O:9. Se piensa que este polisacárido-O está implicado en alguno de los mecanismos que tiene la bacteria para evitar su destrucción por las células fagocitarias del hospedero, aunque su mecanismo no está completamente dilucidado (Young, 2006).

La enfermedad fue reportada por primera vez por Bruce y colaboradores en 1887, cuando aislaron *Brucella melitensis* de un personal militar en Malta, enfermedad

procedente desde cabras infectadas. *Brucella abortus* fue aislada desde abortos de ganado por Bang, mientras que *B. suis* fue descrita por primera vez por Taum, en 1914 (Nicoletti, 2002). Estas tres especies de *Brucella* (*Brucella* clásicas) son las más importantes y contienen el polisacárido O (OPS) en la superficie de la célula. Otras especies importantes que no contienen el OPS en la superficie celular son *Brucella ovis*, identificada por Buddle y Boyes en Australia y Nueva Zelanda como causa de epididimitis en carneros, mientras que Carmichael aisló a *B. canis* de fetos caninos abortados (Nicoletti, 2002). Todas estas especies de *Brucella* están adaptadas para un hospedero específico, pero no de manera exclusiva (Noyma *et al.*, 2009). Las tres especies con OPS son diagnosticadas por serología utilizando un antígeno de células enteras o el lipopolisacárido liso (SLPS) extraído químicamente, mientras que *B. ovis* y *B. canis* son diagnosticadas principalmente usando el lipopolisacárido rugoso (RLPS) o antígenos de proteínas (Carmichael, 2000).

Sintomatología de Brucelosis en perros

La enfermedad puede ser observada solamente en perros y en algunos cánidos de forma natural. *B. canis* tiene un limitado rango de hospederos, a diferencia de las *Brucella* lisas que infectan a varias especies animales domésticas (Carmichael, 2000).

La sintomatología está asociada generalmente con el tracto reproductivo de ambos sexos (Carmichael, 2000). En las hembras, la infección no interfiere con los ciclos estrales normales, mientras que en hembras gestantes es causante de mortinatos y abortos. El feto abortado se observa normal y sólo a veces puede estar autolisado. El aborto puede ocurrir en cualquier periodo de la gestación, pero generalmente ocurre después de los 45 a 55 días (séptima a novena semana de gestación), seguidos generalmente por un flujo vaginal verde mucoso, serosanguinolento o gris que persiste por hasta seis semanas. También puede ocurrir aborto en embriones de 10 a 20 días post cruce, los cuales frecuentemente

pasan inadvertidos, ya que son confundidos con fallas en la concepción. Si no hay aborto, los cachorros mueren en las primeras 24 horas por debilidad o sobreviven quedando permanentemente infectados. Las muertes embrionarias tempranas y reabsorción se han reportado un par de semanas después del apareamiento y pueden ser confundidas con la incapacidad de concebir (Carmichael, 2000 y Spickler, 2009).

Sobre el 85% de las hembras que abortan por *B. canis* pueden concebir camadas normales en los siguientes partos. Raramente las hembras pueden abortar más de 4 veces consecutivas y tener más de 3 apareamientos sin éxito consecutivos (Carmichael, 2000).

La enfermedad se caracteriza por disminuir el rendimiento reproductivo de los machos. El volumen del eyaculado disminuye y el semen de machos infectados usualmente contiene un gran número de espermios anormales y células inflamatorias, especialmente durante los primeros 3 meses luego de la infección (Carmichael, 2000). En infecciones crónicas, puede generar prostatitis, disminución del líbido, atrofia testicular uni o bilateral e infertilidad (Spickler, 2009).

En un estudio realizado por Borie *et al.*, (2002) se describen las características reproductivas a nivel histológico y seminal de 3 perros seropositivos a *Brucella canis*. Las alteraciones observadas a nivel seminal, principalmente en el volumen y morfología espermatogénica, concordaron con los estudios histológicos, donde se encontraron alteraciones en la línea espermatogénica e infiltración eritrocitaria tubular (alteración de la barrera hematotesticular), lo que confirma el impacto negativo de la enfermedad sobre la funcionalidad reproductiva del perro.

B. canis puede provocar otros signos clínicos, los cuales se presentan con menor frecuencia, como discoespondilitis, poliartritis, glomerulonefritis y uveítis con edema corneal (Carmichael y Greene, 2008).

Epidemiología e importancia de la Brucelosis canina en Salud Pública

Existen diversas características que llevan a la brucelosis canina a ser una enfermedad importante dentro de la Salud Pública. En primer lugar es zoonótica, constituyendo un riesgo para la población susceptible. La transmisión a humanos puede ocurrir al tener contacto con el semen de un perro infectado, con descargas vaginales de una perra infectada o con fetos abortados o restos placentarios, pero también, al estar expuesto accidentalmente a la bacteria en el laboratorio. Por lo tanto, la enfermedad es más probable que ocurra en personas que están en contacto con perros reproductores, pero ocasionalmente, se puede presentar en los responsables de los perros con discospondilitis (Davidson y Sykes, 2014).

De igual forma, la infección en humanos es poco común (Spickler, 2009), presentando sintomatología similar a las otras *Brucella*, pero de carácter oligosintomático o asintomático, como fiebre intermitente, cefaleas, artralgias, mialgias y pérdida de peso. Esto ocurre producto de que el humano es considerado relativamente resistente a la bacteria, además de ser una bacteria de baja virulencia y la enfermedad es más leve en contraste con la infección causada por las 3 especies clásicas (Carmichael, 2000).

A diferencia de las *Brucella* lisas que infectan a varias especies de animales domésticos, *B. canis* tiene un número de hospedadores limitados (Carmichael y Greene, 2008). Solamente perros y cánidos salvajes son naturalmente susceptibles a la infección. Caprinos, ovinos y porcinos son muy resistentes a la infección. Los gatos son moderadamente susceptibles a la infección experimental y presentan desarrollo de una bacteremia y títulos de aglutinación bajos a la exposición oral de *B. canis*. Coballos, ratones, ratas y primates no humanos también son susceptibles a la infección experimental, pero como en el humano, la infección es leve. Los conejos pueden ser más susceptibles que otras especies de laboratorio, desarrollando orquitis y abscesos, cuando se inoculan grandes dosis intraperitonealmente. En mofetas rayadas, zorros grises, lobos y zarigüeyas no son detectados anticuerpos séricos. Títulos significativos son observados en gatos monteses, zorros rojos y coyotes (Carmichael, 2000).

La bacteria tiene una viabilidad limitada fuera de sus hospederos. Condiciones ambientales como el calor, desecación y luz solar son factores que inactivan la bacteria en horas, mientras que las bajas temperaturas, la humedad y la materia orgánica prolongan su supervivencia desde días hasta semanas (Abalos, 2010).

La transmisión de *B. canis* ocurre a través de la exposición directa de fluidos corporales que contengan el número de bacterias que causen infección (2×10^6 UFC) (Davidson y Sykes, 2014). Al parecer, las perras infectadas sólo transmiten *B. canis* durante el estro, al aparearse o después de un aborto, a través del contacto buconasal con exudados vaginales, eliminándose por periodos de hasta seis semanas post aborto (Carmichael y Greene, 2008). Además, la transmisión también puede ocurrir a través de la leche, de la vía intrauterina y de la vía oronasal, la cual es importante en condiciones de hacinamiento en perreras (Davidson y Sykes, 2014). La transmisión por fómites relacionados a vaginoscopias, transfusiones sanguíneas, inseminación artificial y el uso de jeringas contaminadas también son señaladas como posibles fuentes de infección (Carmichael y Greene, 2008). A pesar de esto, *B. canis* sobrevive un corto tiempo fuera del hospedero y es fácilmente inactivada por desinfectantes comunes, como componentes de amonio cuaternario, hipoclorito de sodio al 1%, etanol al 70%, solución alcohol-yodo y glutaraldehidos (Davidson y Sykes, 2014).

El líquido seminal y la orina se consideran fuentes de infección en machos, ya que alojan a los microorganismos en la próstata y el epidídimo. La excreción urinaria se inicia unas cuantas semanas tras el comienzo de la bacteriemia y continúa cuando menos durante 3 meses. En machos, se encuentran concentraciones de 10^3 a 10^6 microorganismos/ml de orina, mientras que las hembras presentan una menor concentración. Se cree que esto ocurre por la localización de la próstata y el epidídimo, que están muy cerca de la vejiga urinaria. En semen, la concentración de *B. canis* en perros infectados suele ser alta durante las 6 a 8 primeras semanas post infección y puede observarse la eliminación intermitente del microorganismo en pequeñas cantidades hasta las 60 semanas post infección y en algunos casos, hasta 2 años (Carmichael y Greene, 2008).

Su patrón de infección es similar a otras *Brucella*. La infección puede comenzar en cualquier membrana mucosa, siempre que posea un número suficiente de bacterias en ella. En el caso que la infección ocurra a través de la mucosa oronasal, su periodo de incubación es variable, pero la bacteriemia asociada a leucocitos puede observarse 1 o 2 semanas post infección, siendo la dosis infectante mínima para perros sobre 10^6 bacterias, pero en el caso de infección vaginal es un poco menos. La dosis infectante conjuntival es menor aún, alrededor de 10^4 a 10^5 organismos (Carmichael, 2000).

Esta bacteria se ubica en los linfonodos, el bazo, médula ósea y tracto reproductivo de los perros infectados. Un rasgo común de la infección es su largo periodo de bacteremia, en donde es común encontrar sobre las 10^3 bacterias/mL al mes de infección. La bacteremia puede ser corta (6 meses), persistiendo comúnmente entre 1 a 2 años, y en algunos casos puede durar hasta 5 años. Luego del cese de la bacteremia, la bacteria puede persistir por varios meses en el bazo, linfonodos, médula espinal, próstata y epidídimo (Carmichael, 2000).

En perros, *B. canis* fue descrita por primera vez en 1966 en USA a partir de un brote de abortos en perros beagle. Desde entonces, la bacteria ha sido notificada en numerosos países. En Chile, el primer aislamiento de la bacteria se describe en el año 1978, en la décima y Región Metropolitana. Posteriormente, en estudios realizados en el período entre 1986-87 en criaderos de perros de la Región Metropolitana, se determinó una prevalencia en perros de aproximadamente 13% con serología positiva (Borie y Sánchez, 2002).

B. canis, al ser una infección crónica y subclínica, puede ser transmitida fácilmente hacia una región donde la prevalencia de la enfermedad es baja. El movimiento de perros y la exportación de semen para inseminación artificial son los principales factores que ayudan en la propagación de brucelosis canina (Davidson y Sykes, 2014).

La infección es común en América Central y Sudamérica, principalmente en Brasil con un rango de prevalencia entre 0,84 a 58,3% y está concentrado en su mayoría

en las regiones al sudeste y sur del país (Noyma *et al.*, 2009). En la provincia constitucional del Callao, Perú, los estudios realizados por Ramírez *et al.*, (2006) han encontrado una prevalencia de $15,6 \pm 3,3\%$, encontrando un valor mayor (26,5%) en perros con historial reproductivo que aquellos que no lo tenían (8,6%). Zavala y Morales, (2016) analizaron 202 muestras de sangre procedentes de perros mayores de 6 meses del distrito de Pucusana, Lima, Perú, los cuales fueron analizados mediante la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IDGA), obteniendo el $21,3 \pm 2,9\%$ de seroprevalencia, siendo significativa la asociación entre la seropositividad de *B. canis* y el sexo. Eiras *et al.*, (2014) realizaron un estudio en el sur de Buenos Aires procesando sueros de perros con propietarios, a través de la técnica de aglutinación rápida (RSAT) con 2 Mercapto-etanol (2-ME), obteniendo un 8,6% de muestras positivas a RSAT sin diferencias significativas entre sexo y edad.

Respecto a Colombia, se han realizado varios estudios sobre prevalencia de brucelosis canina. Entre ellos, se puede destacar el realizado por Agudelo-Flóres *et al.*, (2012) en Medellín, quienes analizaron 441 sueros por inmunoensayo cromatográfico, obteniendo una seroprevalencia de 2,76% (IC: 1,11% - 4,42%), siendo mayor en machos (4,6%) y cánidos criollos (4,8%) menores a 1 año (3,7%). Uribe y Delgado, (2012) analizaron 136 muestras provenientes de dos refugios caninos de la ciudad de Bucaramanga, utilizando una prueba diagnóstica comercial “Antigen Rapid C *Brucella* Ab Test kit”, sin obtener resultados positivos en ambos albergues. Ballut *et al.*, (2014) seleccionaron 62 hembras caninas adultas de diferentes áreas urbanas de Montería, las cuales se analizaron por una prueba diagnóstica comercial “Antigen Rapid C *Brucella* Ab Test Kit” obteniendo una seroprevalencia de 6,45%. Del total de hembras muestreadas, el 11,29% tuvo historial reproductivo anormal, con reportes de abortos y reabsorciones, de las cuales sólo el 1,61% fueron positivas. Ruíz *et al.*, (2010) analizaron 221 perros callejeros alojados en el Centro de Bienestar Animal “La Perla”, ubicado en Medellín, los cuales fueron analizados por la prueba de aglutinación rápida en placa, encontrando una seroprevalencia de 6,78%, sin diferencia por grupos de edad o sexo.

En Chile, existe poca información sobre la prevalencia de esta enfermedad. Entre los estudios enfocados en criaderos, cabe destacar el realizado por Troncoso *et al.*, (2013), en el cual se procede a tomar muestras de 3 criaderos ubicados en la comuna de Curicó, analizando un total de 33 caninos, a través de la técnica de contrainmunolectroforesis, obteniendo como resultado que el 18,18% de los cánidos eran seropositivos, sin diferencias significativas en la edad y el sexo de los perros. Obrist (2005), obtuvo un 11,25% de prevalencia a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), por medio del “kit” comercial de Laboratorio Fuller, muestreando 80 perros clínicamente sanos de 2 poblaciones de la comuna de San Bernardo. Tuemmers *et al.*, (2013) analizaron 400 muestras de perros vagabundos capturados en la ciudad de Temuco y albergados en el Canil Temuco, los cuales se procesaron mediante la prueba de inmunocromatografía, utilizando el kit comercial de *Brucella* IC® del Laboratorio Biopronix-Italia, obteniendo un 1% de prevalencia (4 muestras). Gómez (2007) determinó un 16,8% de seropositividad en clínicas veterinarias del Gran Santiago, muestreando alrededor de 363 perros y ocupando la técnica de contrainmunolectroforesis con antígeno LPS-R de *Brucella ovis*.

En un estudio realizado por el Dr. Juan Carlos Hormazabal, perteneciente a la sección de Bacteriología, Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas del Instituto de Salud Pública (ISP), junto a sus colaboradores, identificaron taxonómicamente 15 aislamientos de *Brucella spp.*, pertenecientes a casos humanos de la enfermedad entre el 2009 y abril del 2014. En este periodo, se han presentado aproximadamente 35 casos de Brucelosis humana, como reporta el Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud. Estos fueron sometidos a pruebas bioquímicas, serológicas y PCR en tiempo real, de acuerdo a la base de datos internacional MLVA-NET para *Brucella* del Institut de Génétique et Microbiologie, University of Paris, y protocolos estandarizados por la Bioforensics Assay Development and Diagnostics Section del National Microbiology Laboratory of Canada. De los 15 casos estudiados, 3 correspondían a *B. canis*, especie inusual en humanos y que refleja un cambio epidemiológico importante en nuestro país (Hormazabal *et al.*, 2014).

Método diagnóstico para Brucelosis canina

El diagnóstico de la brucelosis canina no sólo debe basarse en un adecuado examen clínico, sino también apoyarse en pruebas serológicas y/o bacteriológicas, debido a la sintomatología inespecífica (Nielsen, 2002).

El hemocultivo es el diagnóstico definitivo para *B. canis* (Makloski, 2011), sin embargo esta bacteria es de difícil cultivo y lento desarrollo. Las muestras de sangre para cultivo (hemocultivo) son válidas a partir de la primera semana PI. 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. En períodos abacterémicos, el cultivo de orina es una alternativa al hemocultivo, especialmente en los machos. De la misma forma que en la sangre, la bacteriuria es intermitente y en bajas concentraciones, situación que explica resultados falsos negativos. En el cuadro crónico se puede enviar muestras de epidídimo, próstata, semen y médula ósea si existe compromiso osteoarticular. Los fetos abortados, placenta y descargas vaginales son muestras factibles de enviar (Borie y Sánchez, 2002).

B. canis presenta antigenicidad cruzada con otras *Brucella* rugosas, tales como *B. ovis*, *B. abortus* 45/20, *B. abortus* CRB51, así como también con otras bacterias, como cepas mucoides de *Pseudomonas* sp., *Bordetella bronchiseptica*, *Staphylococcus epidermidis* y *Actinobacillus equuli*. La estrecha relación entre *B. canis* y *B. ovis* se ha utilizado como una ventaja en pruebas serológicas para sus diagnósticos (Carmichael y Shin, 1996).

El diagnóstico de las cepas rugosas *B. ovis* y *B. canis* y la cepa vacuna *B. abortus* RB51 se ha logrado utilizando un LPS obtenido a partir de cepas rugosas. Gracias a que comparten componentes antigénicos en común, los lipopolisacáridos rugosos de *B. abortus* CRB51 pueden ser utilizados como antígenos para la detección de todas estas cepas (Nielsen *et al.*, 2004).

La Prueba de Aglutinación Rápida en Portaobjetos con 2-mercaptoetanol (PARP-ME) es un procedimiento diagnóstico que puede ser utilizado en clínica, ya que es de bajo costo, rápido, sensible y detecta anticuerpos tempranos, con una correlación del 99% entre una prueba negativa y la ausencia de la infección. Ocupa *B. ovis* teñida con Rosa de Bengala por su crecimiento menos mucoso que el de *B. canis*. Este último puede generar reacción cruzada con otras *Brucella* rugosas y con otras bacterias mucoides, como es el caso de *Pseudomonas spp.*, *Bordetella bronchiseptica* y *Actinobacillus equuli*. Algunas razas, como lobos irlandeses y pastores ingleses tienen un índice de falsos positivos más alto que otras especies (Carmichael y Greene, 2008).

La Prueba de Aglutinación en Tubo (PAT) se ocupa principalmente para confirmar el resultado de perros positivos a PARP-ME (Makloski, 2011), el cual da resultados positivos confirmados 2 a 4 semanas después de la exposición a la bacteria o bacteremia (Hollett, 2006). Consiste en la adición de células de *Brucella* al suero diluido del individuo y observar el patrón de la célula después de la incubación. Sin embargo, PAT es susceptible a dar falsos positivos por reacción cruzada. Como resultado, el PAT no debe ser usado como un test diagnóstico y su discontinuación es recomendada por la OIE. La modificación de antígenos acidificados (test de Rosa de Bengala), la Precipitación de Rivanol, y el Agente reductor con 2-Mercaptoetanol son modificaciones hechas al PAT para solucionar su problema de especificidad (Nielsen, 2002).

La inmunodifusión en Gel Agar (AGID) fue el primer test que pudo distinguir entre anticuerpos vacunales y de infección para *B. abortus*. Utiliza lipopolisacáridos rugosos de *B. ovis*, siendo considerado un test diagnóstico alternativo por la OIE. A pesar de tener una alta sensibilidad, esta prueba puede presentar falsos positivos (Nielsen, 2002).

La Inmunodifusión en Gel Agar (AGID) ha demostrado ser tan exacta como el Test de Fijación del Complemento (CFT) y menos engorroso. Sin embargo, ambos son difíciles de estandarizar y en el caso del CFT, es recomendado por la OIE como

un ensayo prescrito por el comercio internacional (Nielsen, 2002 y Nielsen *et al.*, 2004).

En términos de sensibilidad analítica, las pruebas de ELISA han demostrado ser superiores a otras técnicas serológicas, como por ejemplo a las de aglutinación, para el diagnóstico de brucelosis canina (Wanke *et al.*, 2002).

El Ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima (ELISA-I) para la detección de anticuerpos de *B. ovis* ha sido reconocido como un test diagnóstico de gran sensibilidad, incluso superior a otras pruebas serológicas. Sin embargo, el uso de un antígeno extraído por solución salina caliente puede ser reportado como causa de reacción cruzada con suero de animales infectados con *B. melitensis*, presumiblemente por compartir epitopos con proteínas de superficie como las proteínas de membrana externa y antígenos citosólicos como el de 18 kd o 29 kd (Nielsen *et al.*, 2004).

Brucella ovis también puede ser diagnosticada usando ELISA-I. Se utiliza un antígeno LPS Rugoso o un “Hot Saline” recubierto pasivamente en una matriz de poliestireno, seguido por un suero diluido y un reactivo de inmunoglobulina anti-oveja (Nielsen, 2002).

Población canina en el Gran Santiago

La población canina del Gran Santiago no ha sido determinada con exactitud. Las cifras manejadas por el Gobierno de Chile sólo se basan en estimaciones, mientras que algunas municipalidades trabajan para estimar sus poblaciones.

A nivel nacional, se han realizado estimaciones de poblaciones caninas y felinas, pero que no permiten entender el comportamiento que han presentado estas poblaciones a través de los años y en las diferentes realidades locales y regionales de Chile. Estas estimaciones se han limitado solamente a la zona central y sur del país, que si bien han servido para el desarrollo de políticas

locales, no constituye información que sea recolectada en forma sistemática o que pueda representar los diferentes contextos sociales, culturales y económicos presentes en las distintas áreas del país (Aguirre, 2015).

De acuerdo al nivel de dependencia del perro en el cuidado humano, incluyendo su alimentación, albergue y compañía humana, y también al nivel de restricción o supervisión impuesta al perro por las personas, se puede clasificar a los perros de la siguiente forma (Espínola, 2004):

- Perro restringido o supervisado: totalmente dependiente y totalmente restringido o supervisado.
- Perro callejero: totalmente dependiente; semi-restringido.
- Perro del vecindario: semi-dependiente; semi-restringido o sin restricción.
- Perro vagabundo: independiente, sin restricción.

Además, se puede realizar una subclasificación para estos 4 tipos de perros (Espínola, 2004):

- Perros con dueños: al referirse a perros callejeros y supervisados
- Perros sin dueño: al referirse a perros vagabundos y de vecindario.

Según el Gobierno de Chile, la población de perros con dueño estimada en la Región Metropolitana sobrepasa el millón y medio, siendo importantísimo su control poblacional, producto del abandono de estos en las calles y el riesgo en la salud pública que esto implica, además de la mala condición en la que viven (Anón, 2012).

Entre los años 1997 y 1998, Acuña, (1998) con la ayuda de las municipalidades de la Región Metropolitana, el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente (SESMA), el Departamento de Programas sobre Ambiente del Ministerio de Salud y el apoyo de la empresa BIOMASTER, asumió la responsabilidad de la

realización del proyecto 'Estudio demográfico de las poblaciones canina y felina en el Gran Santiago, Región Metropolitana'. Para ello, se realizó una encuesta por entrevista personal dirigida al jefe de hogar en las viviendas seleccionadas mediante un sorteo aleatorio estratificado por unidad vecinal en cada comuna. Se determinó un tamaño muestral de 329 encuestas por comuna, con una confianza de un 99% y un margen de error máximo de 20% para el promedio de perros por vivienda. La unidad de muestreo fue la vivienda y se obtuvo información de 28 de las 34 comunas componentes del Gran Santiago, en cuatro de ellas (Independencia, Macul, San Joaquín, Estación Central) se realizó parcialmente, no completándose el número mínimo necesario, por lo que no se consideraron en la información final y dos comunas (Vitacura, Lo Prado) no participaron. Se realizaron 9.414 encuestas, lo que representó un 85,1% de cuestionarios respondidos con un 14,9% de no respuesta, menor al 20% esperado.

Los resultados arrojados en esta encuesta, fueron relacionados al número de viviendas por comuna, dato obtenido a través del censo 1992, obteniendo la relación perros/vivienda promedio de 0,79. Estos resultados pueden ser extrapolados a la población actual, calculando la relación por comuna y el número de viviendas.

Espínola, (2004), observó en las calles de la ciudad de Santiago, una población canina con dueño (perros supervisados y callejeros) entre 150.139 y 215.606 perros, de los cuales, el 75,8% pertenecían a perros callejeros y el 24,2% a perros supervisados. Además, encontró un predominio de machos, con una razón de masculinidad de 3,2, mayoritariamente adultos y sin diferencias significativas en el tamaño corporal.

Rojas, (2005), estimó, en la comuna de Lo Prado, una población canina de 19.523 individuos, con un promedio de 0,77 perros por vivienda y una razón de masculinidad de 1,5. El 62% de perros fueron mestizos y un 38% perros de raza, con una edad promedio de 4 años y 3 meses.

Bustamante, (2008), determinó una población canina de 37.383 perros con dueño en la comuna de Santiago, con un promedio de 0,48 perros por vivienda (desviación estándar= 0,921), de los cuales el 54% correspondía a animales mestizos y una razón de masculinidad de 0,9.

Venegas, (2014), volvió a realizar un estudio demográfico en la comuna de Lo Prado, con el fin de comparar estos resultados con el estudio anterior, realizado por Rojas, (2005). En esta oportunidad, calculó una población de 27.473 perros con dueño y un promedio de 0,9905 perros por vivienda, mayor al calculado el año 2005. Además, el 60,2% correspondieron a mestizos, con una razón de masculinidad de 1,27.

Morales, (2017) determinó una población de 78.985 perros con dueño en la comuna de Santiago, con un promedio de $0,5498 \pm 0,7267$ perros por vivienda. El 47,3% correspondieron a animales mestizos, con una razón de masculinidad de 1,2, mayor a la calculada por Bustamante, (2008). Por lo tanto, la población de perros en esta comuna, ha experimentado un crecimiento considerable de acuerdo con el aumento de la población humana y las residencias actuales de la comuna, resultados similares a los encontrados en la comuna de Lo Prado.

Factores de Riesgo

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), un factor de riesgo se define como cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión. Para determinar el riesgo asociado a un factor de exposición, la población en estudio debe ser dividida en dos o más grupos, por ejemplo, un grupo expuesto y uno no expuesto que tienen una enfermedad o que la han desarrollado en un periodo de tiempo definido.

Existen pocos estudios que asocien la prevalencia de brucelosis canina con diferentes factores de riesgo asociados. Por ejemplo, Agudelo *et al.*, (2012), en un estudio realizado en once comunas de la ciudad de Medellín, Colombia,

consideraron en su estudio características de la vivienda y del medio ambiente en que habitan los perros, como lo son el suministro de agua potable, la recolección de basura, la conexión de acueducto y alcantarillado, la presencia de otros animales domésticos, la presencia de animales silvestres y las fuentes de agua cercanas.

En Chile, el estudio realizado por Gómez, (2007), recopiló información sobre brucelosis canina a través de una encuesta realizada a los dueños de los pacientes. Entre los datos recopilados, se incluyó el sexo, edad, tamaño del perro, esterilización, camadas, sintomatología clínica de la enfermedad, diagnóstico previo de brucelosis y conocimiento del propietario de esta enfermedad.

De igual forma, en la mayoría de los estudios realizados sobre brucelosis canina, se realiza una asociación entre la positividad a la infección con el sexo y la edad de los individuos.

Para este estudio, se realizó una encuesta que recopila algunos de estos datos, con el fin de analizarlos epidemiológicamente y detectar factores de riesgos asociados a la infección de brucelosis canina. Algunos de los datos de los estudios anteriores no son considerados, ya que los perros en estudio pertenecen a diferentes orígenes, esto quiere decir que la persona a cargo no siempre es el dueño, por lo que mucha de esta información no se puede obtener por desconocimiento.

HIPÓTESIS

En el Gran Santiago hay perros, con dueño, seropositivos a brucelosis canina y existen factores de riesgo asociados a esta condición.

OBJETIVO GENERAL

Estimar la prevalencia de la brucelosis canina en el Gran Santiago, analizando los factores de riesgo asociados a su presentación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar la seroprevalencia de Brucelosis canina en perros del Gran Santiago.
- 2) Determinar factores de riesgo asociados a la presentación de la infección.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Gran Santiago, el cual está conformado por las 32 comunas de la provincia de Santiago, más las comunas de Puente Alto (perteneciente a la provincia de Cordillera) y San Bernardo (perteneciente a la provincia de Maipo) todas pertenecientes a la Región Metropolitana. La unidad de muestreo fueron perros de cualquier raza y origen, mayores de 6 meses de edad. El tamaño de muestra para el Gran Santiago fue calculado en 385 muestras como mínimo, considerando el tamaño (N) poblacional como infinito, ya que la población canina se estima sobre un millón y medio de perros, pero sin conocerse su número real, con una prevalencia esperada del 10%, un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 5%. Se obtuvieron 449 muestras con el fin de asegurar el número mínimo de muestreo y posibles problemas que surgieran durante el periodo de toma de muestras. Se utilizó un muestreo aleatorio estratificado, realizando la estratificación en 5 zonas, las cuales se conforman por las siguientes comunas:

- Zona Norte: Quilicura, Huechuraba, Conchalí, Renca, Recoleta, Independencia.
- Zona Sur: La Florida, Las Granja, La Cisterna, El Bosque, La Pintana, San Ramón, San Bernardo.
- Zona Poniente: Cerro Navia, Quinta Normal, Pudahuel, Lo Prado, Estación Central, Cerrillos, Pedro Aguirre Cerda, Lo Espejo, Maipú.
- Zona Oriente; Lo Barnechea, Las Condes, La Reina, Peñalolén, Puente Alto.
- Zona Centro: Santiago, Providencia, Ñuñoa, Macul, San Joaquín, San Miguel.

Estas zonas fueron delimitadas por las grandes avenidas, autopistas o cauces naturales que atraviesan la Región Metropolitana y se realizó para asegurar un

número representativo de muestras en cada sector del Gran Santiago. En el caso de la comuna de Puente Alto, se sumó a la Zona Oriente por pertenecer a la Provincia de Cordillera.

Luego, se realizó una estimación de la cantidad de perros existente por comunas, por medio de la relación perro/vivienda obtenida por Acuña, (1998), y extrapolando dichos resultados a la cantidad de viviendas obtenidas en el censo 2002, ya que los resultados del censo 2012 no están publicados. Con esta información, se obtuvo el porcentaje de importancia de cada comuna y estrato y el número mínimo de muestras a obtener en las diferentes zonas.

Las muestras de sangre de los perros en estudio, fueron obtenidas de diferentes lugares, como son los centros de esterilización municipal, operativos de esterilización, centros veterinarios de atención primaria y clínicas veterinarias privadas. Los centros de esterilización municipal son aquellos que prestan servicios de esterilización a las municipalidades, los cuales pueden pertenecer a la municipalidad o pueden ser de carácter privado, siendo asignados a través de licitaciones públicas. Los operativos de esterilización, son aquellos en los cuales el equipo veterinario se moviliza a diferentes partes de la comuna a realizar esterilizaciones masivas, tanto en sedes vecinales como en una clínica veterinaria móvil. Los centros de atención primaria municipal, son aquellos que prestan servicios de atención primaria veterinaria (control sano, vacunas, etc.) y que son pertenecientes a la municipalidad. Esto permitió la obtención de muestras de los diferentes puntos del Gran Santiago e incluyendo a diferentes estratos sociales.

Junto con la toma de muestras, se realizó una encuesta, con el fin de identificar y asociar factores de riesgo a la presentación de anticuerpos contra brucelosis canina, la cual consta de 9 preguntas y la obtención de datos generales de la mascota, como es su nombre, raza, comuna, sexo, edad, y dirección, esta última opcional, con el fin de no obligar al dueños o persona encargada del perro a dar información que no encuentre pertinente (Anexo 1). La edad fue un punto importante, ya que la toma de muestras se realizó solamente a caninos mayores a 6 meses de edad.

Antes de la realización de la encuesta, se solicitó al dueño o encargado del perro, la firma del consentimiento informado (Anexo 2), en la cual se hizo un compromiso escrito por parte nuestra de entregarles los resultados del examen de las mascotas sin costo y mantener la confidencialidad de los datos entregados en la encuesta. Además de su firma, el dueño nos facilitó su dirección de correo electrónico o número de contacto, ya que por estos medios se entregaron los resultados obtenidos en el examen.

Los resultados de la encuesta fueron traspasados a un documento Excel. Con estos datos, se realizó una regresión logística simple con cada una de las variables independientes. Luego, aquellas que fueron significativas, se ingresaron al modelo de regresión logística múltiple para determinar asociación entre la presencia de brucelosis canina y las variables independientes obtenidas en la encuesta, con el objetivo de identificar factores de riesgos para la infección, considerando un valor de significancia $p \leq 0,05$. Para esto, se utilizó el programa InfoStat versión 2016 (Di Rienzo *et al.*, 2016).

Posterior a la realización de la encuesta, se procedió a la obtención de la muestra venosa de sangre al paciente, desde la vena cefálica, safena o yugular. Con una jeringa, se extrajo un mínimo de 1 ml de sangre, la cual se almacenó refrigerada a 4°C en un tubo tapa roja (sin anticoagulante), removiendo la aguja de la jeringa antes de verter la sangre, evitando de esta forma su hemólisis, según lo explica el protocolo de toma de muestras (Anexo 3). Luego, las muestras se centrifugaron para obtener su suero y de esta forma, congelarlo hasta la realización del ELISA indirecto (ELISA-I). No fue necesario un ayuno del paciente, ya que la lipemia no interfiere con los resultados.

Una vez obtenidas las muestras, se procedió a la realizar un ELISA-I, en placas de poliestireno del tipo NUNC 69620, utilizando como controles positivos y negativos muestras diagnosticadas por Contraimmunoelectroforesis (CIEF), de acuerdo a las condiciones propuestas por Meza, (2011), con algunas modificaciones. Esto se realizó en el laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la

Universidad de Chile (FAVET). En primer lugar, las placas se sensibilizan con un Lipopolisacárido rugoso (LPSR) de *Brucella abortus* RB51, a una dilución de 1:100, utilizando como buffer de dilución Carbonato- Bicarbonato ($\text{NaHCO}_3/\text{NaCO}_3$) a 0,05M, pH 9,6 \pm 0,05. Se utilizan 100uL por pocillo y la placa se incuba a temperatura ambiente por 18 horas. Posterior al proceso de sensibilización de las placas con el antígeno, estas son bloqueadas con 100uL por pocillo con leche descremada al 0,5% en tampón fosfato salino 0,01M, pH 7,4 \pm 0,2 (PBS), a 4°C durante 18 a 24 horas, para eliminar reacciones inespecíficas. Posterior a esto, las placas se lavan 3 veces con solución de lavado PBS Tween (PBS/T), el cual contiene un tampón fosfato salino 0,01M, pH 7,4 \pm 0,2 con 0,5% Tween-20, pH 7,2. Luego del lavado, las placas se secan cuidadosamente.

Una vez recolectadas las muestras y luego de sensibilizar y bloquear las placas, se procedió a la realización del ELISA-I de acuerdo al siguiente protocolo. Los sueros se agregan a concentración de 1:100 en PBS/T 0,05%/EDTA 10mM, 100uL por pocillo e incubados a 37°C por una hora en agitación constante. Luego, la placa se lava 3 veces con solución de lavado PBS/T, se agregan 100 uL de anti IgG canina conjugada a peroxidasa diluida en PBS a 1:9000 e incubadas nuevamente a 37°C por una hora en agitación constante. Nuevamente, posterior a la incubación, se lavan 3 veces las placas con PBS/T y posteriormente se agregan 100uL por pocillo de una solución sustrato cromógeno de 1mM de ABTS (ácido 2,2'-azino bis [3-ethyl-benzthiazoline sulfónico]) y 4,4 mM de H_2O_2 en tampón citrato sodio/ácido cítrico 0,05M pH 4,5 \pm 0,05. Las placas nuevamente se incuban por 15 minutos a 37°C en agitación constante, para luego detener la reacción con una solución de sodio dodecil sulfato (SDS) al 4%. Los resultados se obtienen a través de un equipo INMUNOSKAN Plus®, el cual realiza la lectura de las reacciones con un filtro de 405 nm, entregando las absorbancias de cada pocillo.

Para la interpretación de las lecturas, las absorbancias fueron transformadas en porcentajes de positividad (PP), considerando que el control positivo (con un 100% de PP) y uno negativo, obtenidos de muestras diagnosticadas por CIEF. La línea de corte entre positividad y negatividad (cut off) se considera con un PP de 65%.

De esta forma, al analizar todos los sueros, se pudo calcular la prevalencia de brucelosis canina en el Gran Santiago.

RESULTADOS

1) Determinación de la seroprevalencia de brucelosis canina en perros del Gran Santiago, a través de la prueba de ELISA Indirecto

Las muestras de este estudio, fueron obtenidas de los siguientes lugares: 74% en centros de esterilización municipal, 10% en operativos de esterilización, 7% en centros veterinarios de atención primaria y 9% en clínicas veterinarias privadas.

Estas se obtuvieron desde las comunas del Gran Santiago. Se excluyó la comuna de Cerrillos, ya que no se obtuvieron las firmas de los dueños de las mascotas para autorizar el estudio (Tabla 1).

Tabla 1: Distribución de comunas por zonas del Gran Santiago. Muestras totales y positivas obtenidas por comunas.

Zona	COMUNA	Muestras Tomadas	Muestras positivas
Zona Norte	Quilicura	11	3
	Huechuraba	16	0
	Conchalí	15	0
	Renca	15	0
	Recoleta	15	3
	Independencia	12	3
Zona Poniente	Cerro Navia	15	0
	Quinta Normal	12	1
	Pudahuel	15	0
	Lo Prado	15	4
	Estación Central	12	2
	Pedro Aguirre Cerda	15	0
	Lo Espejo	13	1
	Maipú	15	4
Zona Centro	Santiago	15	3
	Providencia	4	2
	Ñuñoa	6	0
	Macul	15	0
	San Joaquín	8	1
	San Miguel	14	0
Zona Oriente	Vitacura	6	0
	Lo Barnechea	15	1
	Las Condes	15	1
	La Reina	15	0
	Peñalolen	15	1
	Puente Alto	20	1
Zona Sur	La Florida	17	1
	La Granja	13	0
	La Cisterna	15	2
	El Bosque	15	1
	La Pintana	15	1
	San Ramón	15	1
	San Bernardo	15	3

El porcentaje de importancia del estrato, se realizó a través de la relación perro/vivienda obtenida por Acuña, (1998), y extrapolando dichos resultados a la cantidad de viviendas obtenidas en el censo 2002 (Tabla 2). Al considerar esto, se obtiene una seroprevalencia corregida por estrato de 8,7%, con un error estándar (EE) de 2,8% (IC: 5,9% - 11,5%) en el Gran Santiago.

Tabla 2: Número de sueros caninos positivos distribuidos por zonas e importancia de los estratos según relación perro/vivienda de las comunas que las conforman.

Zonas	Positivos	Negativos	Porcentaje de importancia del estrato*	Prevalencia por Estrato
Zona norte	9	75	10%	10,7%
Zona sur	9	96	30%	8,6%
Zona oriente	4	82	20%	4,7%
Zona poniente	12	100	30%	10,7%
Zona centro	6	56	10%	9,7%

*El porcentaje de importancia del estrato se calculó al sumar el porcentaje de importancia de las comunas que conforman cada una de las zonas.

2) Determinación de los factores de riesgos asociados a la presentación de la infección de brucelosis canina.

A) Resultados de la encuesta.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la encuesta (Tablas 3 y 4) de todas las variables independientes consideradas en el estudio.

Tabla 3: Número y porcentaje de respuestas por cada una de las variables independientes cualitativas del estudio.

Variable	Parámetros	Cantidad	Porcentaje
Sexo	Hembra	326	73%
	Macho	123	27%
Raza	Mestizo	324	72%
	Raza	125	28%
Acceso a la calle	Si	367	82%
	No	82	18%
Forma en la que sale a la calle	Paseo con correa	175	39%
	Libre acceso	138	31%
	Paseo sin correa	54	12%
	No sale	82	18%
Adquisición	Adopción	405	90%
	Comprado	44	10%
Lugar de adquisición	Calle	201	45%
	Particular	162	36%
	Nació en casa	42	9%
	Criadero	8	2%
	Privado	36	8%
Tipo de vivienda	Casa	388	86%
	Departamento	61	14%
Se ha cruzado	Si	130	29%
	No	262	58%
	No lo sabe	57	13%
Se ha cruzado con diferentes perros	Si	49	11%
	No	343	76%
	Sin Información	57	13%

Tabla 4: Tabla resumen de las variables independientes cuantitativas del estudio.

Variable	Cantidad	Media	Desviación Estándar	Valor Mínimo	Valor Máximo
Edad (en años)	449	2,9	2,86	0,5	16
Total de perros que viven por vivienda	449	2,91	3,01	1	30
Número de cruza que ha tenido	392	0,7	1,4	0	9
Con cuantos perros diferentes se ha cruzado	392	0,68	1,43	0	9

B) Determinación de los factores de riesgos asociados a la presentación de la infección de brucelosis canina.

Tanto la variable “Total de perros que viven por vivienda” como “Edad (en años)”, han sido identificadas como factores de riesgo.

Respecto a la variable independiente “Número de cruza que ha tenido”, 57 de las 449 muestras no presentan información al respecto por desconocimiento de los dueños. Al considerar esta variable en el modelo de regresión logística múltiple, considerando solamente las 392 muestras que poseen esta información, se observa que la variable presenta asociación significativa y puede ser considerada como factor de riesgo, al igual que las variables “Total de perros que viven juntos” y “Edad (en años)”, como lo muestra la Tabla 5.

Tabla 5: Modelo de regresión logística múltiple, con 392 muestras y un valor $p \leq 0,05$.

Parámetro	Odd Ratio	P-valor	Wald LI (95%)*	Wald LS (95%)*	Wald Chi²	Error Estándar	Estimado
Total de perros que viven juntos	1,12	0,0173	1,02	1,23	5,66	0,05	0,11
Edad (en años)	1,18	0,0037	1,06	1,32	8,43	0,06	0,16
Número de cruzas que ha tenido	1,37	0,0012	1,13	1,65	10,49	0,1	0,31

*El valor Wald LI (límite inferior) y Wald LS (límite superior) corresponden al intervalo de confianza del valor de Odd Ratio (O.R).

DISCUSIÓN:

En la actualidad, existen pocos estudios sobre brucelosis canina en nuestro país. A pesar de ser una enfermedad zoonótica, su control se limita solamente a criaderos, principalmente por las pérdidas económicas que genera al provocar abortos en las hembras infectadas, sin considerar los efectos que pueda provocar en las personas. En muchos casos, este control solo se enfoca a diagnosticar la infección de brucelosis canina y es realizado, sin la supervisión de un médico veterinario, por los dueños de los criaderos, quienes ignoran las medidas de bioseguridad necesarias y el manejo adecuado que se debe tener de los fetos abortados y restos placentarios, los cuales son los principales focos de infección de *Brucella canis* (Carmichael y Greene, 2008).

La población de perros con dueño calculada en la Región Metropolitana, según estimaciones realizadas por el Gobierno de Chile, sobrepasa el millón y medio de ejemplares (Anón, 2012). Esto hace más preocupante el problema de brucelosis canina, producto del desconocimiento de los dueños y encargados de las mascotas sobre tenencia responsable, existiendo en la actualidad, muchos animales sin esterilizar. Es más, muchas personas aún creen que deben cruzar a las hembras antes de esterilizarlas y en el caso de los machos, no los castran por una concepción de corte machista, siendo el macho el principal diseminador de la infección en la población canina, por la posibilidad de realizar muchas montas a lo largo del año (Gómez, 2007). Ningún tratamiento antibiótico es 100% eficaz en el control de la enfermedad y la infección a menudo reaparece en animales tratados. Preferiblemente, los machos y las hembras positivos deben ser esterilizados (Wanke, 2004). Gracias a la nueva ley de tenencia responsable de mascotas y animales de compañía, según lo expuesto en su artículo 5, título III, del reglamento y ordenanza municipal (Chile, Ministerio de Salud, 2017) las municipalidades deberán realizar, para toda la comunidad, campañas de educación en tenencia responsable de animales y será obligatoria la esterilización de machos y hembras, lo que permitirá, indirectamente, un control en la propagación de brucelosis canina, tanto a humanos como a otros caninos. A pesar

de esto, muchos dueños y responsables de mascotas desconocen la existencia de esta enfermedad, lo cual fue expuesto por Gómez, (2007), en donde obtuvo que más del 91% de las personas encuestadas en su estudio desconocía la existencia de brucelosis canina. Es por esto que nació la necesidad de realizar un nuevo estudio sobre la seroprevalencia de brucelosis canina en el Gran Santiago, con el fin de conocer la realidad en la que se encuentra la infección de *B. canis* en la actualidad.

Con el fin de evitar sesgos de información, a ninguno de los propietarios de los animales muestreados se le consultó información sobre la presencia de signología ni sintomatología acorde a brucelosis canina, ya que en la encuesta no se realizaron preguntas en relación a esto (Anexo 1). De esta manera, se evitó la selección de animales sospechosos a la infección y se permitió una selección aleatoria de estos. De igual forma, el lugar físico de obtención de la toma de muestras se realizó en los centros de esterilización municipal, operativos de esterilización masiva, centros veterinarios de atención primaria y clínicas veterinarias privadas, lo que permitió incluir a todos los estratos sociales y animales de diferente origen, desde adopciones hasta animales comprados. Sin embargo, el 90% de los perros muestreados fueron adoptados, mostrando una fuerte tendencia en este tipo de adquisición de mascotas.

La seroprevalencia obtenida en este estudio (8,7%; EE= 2,8%), está relacionada con otros estudios sobre brucelosis canina en nuestro país, los cuales varían desde un 1% a un 18,18% de prevalencia. Troncoso *et al.*, (2013), obtuvo un 18,18% en 33 muestras de caninos procedentes de 3 criaderos ubicados en la comuna de Curicó, analizados a través de la técnica de contrainmunolectroforesis (CIEF), el cual no es representativo de la comuna, por ser muestras obtenidas solamente en criaderos y con un tamaño muestral pequeño. Gómez, (2007), a través de la técnica de CIEF, determinó un 16,8% de seropositividad en clínicas veterinarias del Gran Santiago, tomando 384 muestras. Dentro de este estudio, también se realizó una encuesta, en donde se recopiló información sobre sospecha clínica y sintomatología asociada a brucelosis canina,

por lo que el mayor valor de seroprevalencia obtenido puede estar influenciado por esto.

Nielsen *et al.*, (2004), demostraron que la prueba de ELISA-I, utilizando lipopolisacárido rugoso de *B. abortus* CRB51 puede ser aplicada para la detección de *B. canis*, con una sensibilidad y especificidad de 95,8% y 100% respectivamente. La prueba de ELISA-I utilizada en nuestro estudio, ocupa este lipopolisacárido y presenta un alto índice de concordancia (Índice Kappa), respecto a la técnica de CIEF, con un valor de 0,961 (Meza, 2011). Al no existir datos sobre sensibilidad y especificidad de la técnica de CIEF, se puede inferir que son elevados gracias al índice Kappa obtenido con la técnica de ELISA-I.

Tuermers *et al.*, (2013) obtuvieron un 1% de prevalencia, analizando 400 muestras de perros vagabundos capturados en la ciudad de Temuco y albergados en el Canil Temuco, los cuales se procesaron mediante la prueba de inmunocromatografía, utilizando el “kit” comercial de *Brucella* IC® del Laboratorio Biopronix-Italia. De acuerdo a la ficha del producto, este no presenta información sobre su sensibilidad ni especificidad.

Con frecuencia los resultados de las pruebas serológicas son negativas en las 3 a 4 primeras semanas subsiguientes a la infección, a pesar de que la bacteremia comienza dentro de la segunda semana. Por otro lado, las hembras con infección crónica pueden tener títulos bajos de anticuerpos que no permiten establecer el diagnóstico (Carmichael y Greene, 2008). Wanke *et al.*, (2012) compararon la prueba de inmunocromatografía (FASTest) con las técnicas de 2ME-RSAT, AGID y ELISA. En los casos agudos y subagudos, el FASTest obtuvo una sensibilidad y especificidad de 89% y 100% respectivamente, mientras que en los casos con brucelosis crónica, la sensibilidad del FASTest fue menor que la de ELISA. Por lo que en el caso de Tuermers *et al.*, (2013), la técnica diagnóstica utilizada no fue la ideal, ya que la mayoría de las muestras obtenidas en su estudio corresponderían a casos crónicos, en los cuales, la inmunocromatografía no posee una buena sensibilidad, obteniendo, potencialmente, muchos falsos negativos y por ende, un valor de prevalencia bajo.

Obrist, (2005), obtuvo un 11,25% de prevalencia en dos poblaciones (Población Diego Portales y Población Confraternidad) de la comuna de San Bernardo en 80 perros clínicamente sanos, a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), por medio del “kit” comercial de Laboratorio Fuller. Sin embargo, según los resultados obtenidos por el laboratorio de diagnóstico de la Universidad de Cornell, estos indican una alta tasa de falsos positivos con la prueba IFI (Wanke, 2004). Este estudio no es representativo de la comuna de San Bernardo, ya que el tamaño muestral es pequeño y sólo consideró dos poblaciones de la comuna.

Sobre los resultados obtenidos en la encuesta y la determinación de los factores de riesgos asociados a la presentación de la infección de brucelosis canina, 57 de las 449 muestras no fueron consideradas, por no presentar información sobre la variable “Número de cruas que ha tenido”, por desconocimiento de la situación por parte de los dueños. Dentro de este modelo de regresión logística múltiple, esta variable es considerada un factor de riesgo, con un valor de Odd Ratio (O.R.)= 1,37 (P-valor= 0,0012) lo que indica que a mayor número de cruas, más riesgo tienen los perros de adquirir la infección. Dentro de estas 57 muestras que no fueron consideradas, existen ocho de las 40 muestras positivas que se obtuvieron en el estudio. A pesar de esta disminución en la cantidad de positivos incluidos en el estudio, las variables independientes consideradas como factores de riesgo con 392 muestras no revelan diferencias significativas al compararlas con el modelo de regresión logística múltiple con 449 muestras (Tabla 6 en Anexo 4).

Entre los factores de riesgo identificados dentro de este estudio, la variable “Edad (en años)” presenta una media de 2,9 años (Desviación estándar = 2,86); lo que muestra que, en general, la población muestreada es joven. De igual forma, esta variable presenta un valor de O.R.= 1,18 (P-valor= 0,0037), lo que implica que entre mayor edad tengan los perros, más riesgo de contraer la infección tienen. En el caso de la variable “Total de perros que viven por vivienda”, el valor de la media es de 2,91 perros por vivienda (Desviación estándar = 3,01). Al igual que la variable anterior, presenta un valor de O.R.= 1,12 (P-valor= 0,0173), por lo que,

entre más perros vivan juntos, más riesgo hay de contraer la infección. Ambas variables están relacionadas con una mayor probabilidad de tener contacto con otros perros infectados, incluyendo un mayor número de cruzas.

Respecto a la variable independiente “Adquisición de la mascota”, los resultados obtenidos en la encuesta presentan una tendencia hacia la adquisición a través de la adopción, ya que el 90% de los perros fueron adquiridos de esta forma y el 10% restante comprados. Al introducir la variable “Adquisición comprados” al modelo de regresión logística, esta no es significativa. Aun así, el valor de p (P-valor) obtenido es cercano al de corte ($p \leq 0,05$), presentando un P-valor = 0,0675 y un valor de O.R.= 2,47, sin alterar los valores de las otras variables independientes incluidas en el modelo (Tabla 7 en Anexo 4). Sería importante considerar esta variable en próximos estudios, incluyendo un mayor número de perros adquiridos a través de la compra, ya que en el presente estudio, este es muy bajo y podría ser la causa por la cual esta variable no es significativa.

Respecto a la raza, predominan los perros mestizos, resultado similar al encontrado en los estudios de Rojas, (2005), Bustamante, (2008) y Venegas, (2014). En cambio, Morales, (2017) encontró un predominio de perros de raza en la comuna de Santiago, por lo que sería importante conocer la realidad actual de todas las comunas, las cuales han variado sus características demográficas en el transcurso del tiempo.

Al analizar la variable “Forma en que sale a la calle”, 31% de las mascotas del estudio, sale sin ningún tipo de supervisión (Libre acceso a la calle), sin tener información sobre lo que realiza la mascota en ese periodo, mientras que un 12% lo hace con supervisión, pero sin ningún método de sujeción, lo que permite un contacto directo entre las mascotas, favoreciendo el posible contagio de *B. canis*. De igual forma, las variables “Se ha cruzado con diferentes perros” y “Número de cruzas que ha tenido”, podrían verse influenciadas por la falta de información en las mascotas que tienen un libre acceso a la calle, en especial los machos, en los cuales si no se visualiza el momento en que se cruza con una hembra, pasa desapercibido por el dueño.

Respecto a la variable "Sexo", al evaluar el porcentaje de muestras obtenidas, el 73% de ellas fueron hembras, siendo la principal razón por la cual esta variable no fue significativa en el modelo de regresión logística múltiple, a pesar que 23 de las 32 muestras positivas consideradas en el presente estudio fueron hembras.

Según el estudio realizado por Morales, (2017), se ve que la razón de masculinidad (RM) calculada para la comuna de Santiago fue de 1,2, resultado similar al encontrado por Venegas, (2014), el cual obtuvo una $RM= 1,27$ en la comuna de Lo Prado. La razón de masculinidad obtenida en este estudio es de 0,4 por lo cual, la población muestreada no es acorde a la que se presenta en estas comunas del Gran Santiago, lo que podría alterar de mayor manera la significancia de esta variable en el modelo de regresión logística múltiple y el valor de seroprevalencia obtenido en el presente estudio, producto que, en mayor medida, la población representada fue la de hembras. Existe la posibilidad de que al incluir una mayor población de machos, con una razón de masculinidad cercana a los valores obtenidos en los estudios demográficos, la seroprevalencia obtenida en el Gran Santiago podría aumentar o disminuir.

De acuerdo a estos datos, también podemos observar diferencias en la razón de masculinidad de otros estudios realizados en la Región Metropolitana. Gómez, (2007) obtuvo una $RM= 0,82$ en el Gran Santiago, mayor a la reportada en el presente estudio, pero inferior a la obtenida en los estudios demográficos. Por otro lado, Obrist, (2005) obtuvo una $RM= 1,86$ en dos poblaciones de la comuna de San Bernardo, mayor a la obtenida en los estudios demográficos de otras comunas. Estos resultados pueden ser una de las razones por las cuales existen diferencias entre los valores de seroprevalencia obtenidos en estos trabajos, respecto al calculado en el presente estudio. Sin embargo, no existen estudios demográficos recientes en San Bernardo, por lo que la razón de masculinidad obtenida por Obrist, (2005) puede estar acorde a la realidad actual de la comuna.

Venegas, (2014) obtuvo, en la comuna de Lo Prado, que el 38,8% de las hembras y el 6% de los machos estaban esterilizados. Considerando estos datos y que el 84% de las muestras del presente estudio corresponden a mascotas que fueron a

esterilizarse, se puede observar una fuerte tendencia a esterilizar más hembras que machos, siendo este factor el principal responsable de la diferencia obtenida en la razón de masculinidad.

De igual forma, los resultados del presente estudio están acordes a lo expuesto por Ramírez *et al.*, (2006); Gómez, (2007); Ruíz *et al.*, (2010); Uribe y Delgado, (2012); y Troncoso *et al.*, (2013); en los cuales no se encontró asociación entre el sexo y la positividad a la infección a brucelosis canina. Zavala y Morales, (2016), observaron diferencias significativas entre sexo (machos: 16.8%; hembras: 28.67%; $p \leq 0,05$); la cual fue explicada por la mayor cantidad de perros machos muestreados (125) en relación a hembras (77), aunque no mencionan el método estadístico utilizado para determinar dicha relación, pero se asume que se trata de la prueba de chi-cuadrado.

Si se toma en cuenta que algunas condiciones ambientales, como por ejemplo, las bajas temperaturas, la humedad y la materia orgánica prolongan la supervivencia de *B. canis* desde días hasta semanas en el ambiente (Abalos, 2010), sería importante considerar en próximos estudios el entorno en el cual vive la mascota, ya que la bacteria se puede transmitir vía oronasal, a través del contacto directo del canino con el líquido seminal y la orina en los machos y los exudados vaginales en las hembras (Davidson y Sykes, 2014; Carmichael y Greene, 2008).

Algunas de las variables independientes identificadas como factores de riesgo en el presente estudio, pueden verse influenciadas, de cierta manera, por el entorno en el que vive el perro. Este es el caso de la variable “Total de perros que viven juntos”, ya que si un perro positivo se encuentra en un hogar y no se realiza un saneamiento constante y adecuado del ambiente, *B. canis* tendrá una sobrevivencia mayor y el resto de las mascotas presentará una mayor probabilidad de infectarse con esta bacteria (Spickler, 2009)

De igual forma, esta variable puede verse influenciada por la condición sanitaria con la cual llegue el canino al hogar. En la mayoría de los casos, cuando se adquiere a una nueva mascota, no se realiza un chequeo de esta ni se realizan

exámenes complementarios que verifiquen la positividad a una posible infección de brucelosis canina. Por lo tanto, al adquirir un mayor número de perros sin realizar estos procedimientos, más probabilidades se tienen de introducir la bacteria al hogar. Por lo tanto, todas las variables consideradas como factores de riesgo en el presente estudio, dependen de otros factores, algunos de los cuales no fueron considerados aquí, otros son difíciles de analizar o, en algunos casos, es imposible hacerlo, por la necesidad de conocer información previa a la llegada al hogar, la cual no es habitualmente conocida por el propietario.

En síntesis, es importante realizar estudios epidemiológicos sobre la brucelosis canina de forma regular en nuestro país, conocer más a fondo la realidad de esta infección y el cómo va variando su presentación en el tiempo. Su importancia en salud pública radica en su potencial zoonótico, al desconocimiento de su existencia y a la sobrepoblación canina que existe en la actualidad, agudizada por la baja y a veces nula educación en tenencia responsable que poseen los dueños de las mascotas y en que las muestras del presente estudio se obtuvieron de pacientes clínicamente sanos. A pesar que en el mes de julio (2017) se promulgó la nueva ley de tenencia responsable de mascotas, Chile recién comienza a incursionar en estos temas y es necesario trabajar en ello, enfocándose en la educación de la población y en el control de este tipo de enfermedades infecciosas y otras parasitarias de poco conocimiento público, pero de alto impacto en la salud pública de nuestro país.

CONCLUSIÓN

La seroprevalencia de brucelosis canina, en perros con dueño del Gran Santiago fue de 8,7%, con un error estándar de 2,8% (IC: 5,9% - 11,5%).

Esta condición de seropositividad se asoció a la edad, al número de perros que cohabitan y al número de cruzas, como factores de riesgo.

BIBLIOGRAFÍA

ABALOS, P. 2010. Brucelosis. In: Retamal, P.; Abalos, P.; Fredes. F. Enfermedades animales producidas por agentes biológicos. Ed. Universitaria. Santiago, Chile. pp. 33-37.

ACUÑA, P. 1998. Demografía canina y felina en el Gran Santiago, 1997. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 81p.

AGUDELO-FLOREZ, P.; CASTRO, B.; ROJO-OSPINA, R.; HENAO-VILLEGAS, S. 2012. Seroprevalencia y factores de riesgo para brucelosis canina en perros domésticos de once comunas de la ciudad de Medellín- Colombia. Rev. Salud Pública. 14(4):644-656.

AGUIRRE, C. 2015. Diagnóstico de necesidades para la implementación de un programa de tenencia responsable de animales en Chile. Tesis Magister en Salud Pública. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Medicina. 106 p.

ANÓN. 2012. Gobierno Regional impulse programa de esterilización canina con chip de identificación: El programa contempla atención gratuita para 180.000 perros y educación para el cuidado y buen trato hacia las mascotas. [en línea]. Gobierno Regional. 2012. <<http://www.cuidadoconelperro.cl/gobierno-regional-impulsa-programa-de-esterilizacion-canina-con-chip-de-identificacion/>> [consulta: 13-10- 2016].

BALLUT, J.; CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V. 2014. Brucelosis en hembras caninas en Montería (Colombia): Un problema para salud pública. Biosalud 12(2): 66- 74.

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): 111-116.

BORIE, C.; SÁNCHEZ, M. 2002. Brucelosis en el perro. [en línea] < <http://www.revistas.uchile.cl/index.php/RT/article/view/10502/10556> > [consulta: 15- 10- 2016].

BUSTAMANTE, S. 2008. Demografía en las poblaciones de perros y gatos en la comuna de Santiago. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 84 p.

CARMICHAEL, L. 2000. *Brucella canis*. **In:** Nielsen, K. y Duncan. (Eds.). Animal Brucellosis. J. Editorial CRC Press. Florida. U.S.A. pp: 335-350.

CARMICHAEL, L.; GREENE, C. 2008. Brucelosis canina. **In:** Greene, C. (Eds.). Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos. 3ª Edición. Editorial Inter-Medica. Buenos Aires, Argentina .pp: 411-424.

CARMICHAEL, L.; SHIN, J. 1996. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim) 11(3): 161-165.

CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2017. Ley Número 21020 sobre tenencia responsable de mascotas y animales de compañía. 02 agosto 2017.

DAVIDSON, A.; SYKES, J. 2014. Canine Brucellosis **In:** Sykes, J. Canine and Feline Infectious Diseases. Elsevier. Missouri. St. Louis, USA. pp. 512-519.

DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C. 2016. InfoStat-Statistical, versión estudiantil gratuita. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

EIRAS, D.; SCODELLARO, C.; VEZZANI, D.; LÓPEZ, G.; BOERO, C.; SÁNCHEZ, R. 2014. Diagnóstico serológico de brucelosis en perros del conurbano sur bonaerense. Rev. Argent. Zoonosis Enferm. Infecc. Emerg. 9(2): 26- 27.

ESPÍNOLA, F. 2004. Estimación de la población canina callejera y supervisada en las calles de la ciudad de Santiago, Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 53 p.

GODFROID, J.; SCHOLZ, H.; BARBIER, T. NICOLAS, C.; WATTIAU, P.; FRETIN, D.; WHATMORE, A.; CLOECKAERT, J.; BLASCO, J.; MORIYON, I.; SAEGERMAN, C.; MUMA, J.; AL DAHOUK, S.; NEUBAUER, H.; LETESSON, J. 2011. Brucellosis at the animal/ ecosystem/ human interface at the beginning of the 21st century. *Prev Vet Med.* 102(2): 188- 131.

GÓMEZ, V. 2007. Seroprevalencia de brucelosis canina por *B. canis* en clínicas Veterinarias del Gran Santiago 2002-2003. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 44 p.

HARTMANN, K.; GREENE, C. 2007. Enfermedades provocadas por infecciones bacterianas sistémicas. In: Ettinger, S.; Feldman,E. (Eds.) Tratado de Medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. Volumen 1. 6ª Edición. Elsevier España S.A. Madrid, España. pp: 626-628.

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

HORMAZABAL, J.; CORBETT, C.; ANTONATION, K.; ARAYA, P.; FLORES, R.; DUERY, O.; PIDAL, P. 2014. Identificación taxonómica de aislamientos de *Brucella spp.* de casos humanos, aislados en hospitales chilenos 2009-2014. In: XXXI Congreso Chileno de Infectología, Puerto Varas, Chile. 12-15 noviembre 2014. Sociedad Chilena de Infectología. pp. 18.

MAKLOSKI, C. 2011. Canine Brucellosis Management. *Vet. Clin. Small Anim.* 41(6): 1209-1219.

MEZA, M. 2011. Desarrollo de un Elisa Indirecto con antígeno LPS-R de *Brucella abortus* Cepa RB51, para el diagnóstico serológico de Brucelosis canina. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 19p.

MORALES, R. 2017. Demografía de la población de perros (*canis familiaris*), de las viviendas de la comuna de Santiago de Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 54p.

NICOLETTI, P. 2002. A short history of brucellosis. Vet. Microbiol. 90(1-4): 5- 9.

NIELSEN, K. 2002. Diagnosis of brucellosis by serology. Vet. Microbiol. 90: 447-459.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; CONDE, S.; DRAGHI DE BENITEZ, G.; GALL, D.; HALBERT, G.; KENNY, K.; MASSENGILL, C.; MUENKS, Q.; ROJAS, X.; PÉREZ, B.; SAMARTINO, L.; SILVA, P.; TOLLERSRUD, T.; JOLLEY, M. 2004. Rough lipopolysaccharide of *Brucella abortus* RB51 as a common antigen for serological detection of *B. ovis*, *B. canis*, and *B. abortus* RB51 exposure using Indirect Enzyme Immunoassay and Fluorescence Polarization Assay. J. Immunoass. Immunoch. 25(2): 171- 182.

NOYMA, M.; AZEVEDO, E.; ALVES, T.; LIMA, R. 2009. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. Cienc. Rural. 39(7): 2252- 2260.

OBRIST, W. 2005. Seroprevalencia de *Brucella canis* en una población canina perteneciente a la comuna de San Bernardo, Región Metropolitana. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Santo Tomás. Facultad de Medicina Veterinaria. 57p.

RAMÍREZ, H.; CALLE, S.; ECHEVARRIA, L.; MORALES, S. 2006. Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la Provincia Constitucional del Callao. Rev. Inv. Vet. Perú. 17 (1): 39-43.

ROJAS, A. 2005. Demografía en las poblaciones de perros y gatos en la comuna de Lo Prado. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 77 p.

RUÍZ, J.; GIRALDO, C.; LÓPEZ, L.; CHICA, J. 2010. Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del centro de bienestar animal “La Perla”, Medellín (Colombia), 2008. Rev. Colomb. Cienc. Pec. 23(2): 166- 172.

SPICKLER, A. 2009. Canine Brucellosis: *Brucella canis*. [en línea] . **In:** The Center for Food Security & Public Health.
<<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucellosis.pdf> >. [consulta: 09-06-2016].

TRONCOSO, I.; ROJAS, R.; FISCHER, C.; NÚÑEZ, C.; ARRUE, K. 2013. Brucelosis en criaderos caninos: seroprevalencia de 33 casos. Hosp. Vet. 5 (2): 50-55.

TUEMMERS, C.; LUDERS, C.; ROJAS, C.; SERRI, M.; CASTILLO, C.; ESPINOZA, R. 2013. Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. Rev. Chilena Infectol. 30(4): 395- 401.

URIBE, R.; DELGADO, K. 2012. Determinación de la presencia de *Brucella canis* en caninos de dos refugios de la ciudad de Bucaramanga en 2012. Rev. Med. Vet. Zoot. 8(1): 95- 103.

VENEGAS, J. 2014. Actualización y comparación de situación demográfica en perros y gatos en la comuna de Lo Prado (año 2004 – año 2013). Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 84p.

WANKE, M. 2004. Canine brucellosis. Anim. Reprod. Sci. 82-83: 195- 207.

WANKE, M.; CAIRÓ, F.; ROSSANO, M.; LAIÑO, M.; BALDI, P.; MONACHESI, N.; COMERCIO, E.; VIVOT, M. 2012. Preliminary study of an Immunochromatography Test for serological diagnosis of canine brucellosis. *Reprod. Dom. Anim.* 47(6): 370- 372.

WANKE, M.; DELPINO, M.; BALDI, P. 2002. Comparative performance of test using cytosolic or outer membrane antigens of *Brucella* for the serodiagnosis of canine brucellosis. *Vet. Microbiol.* 88(4): 367- 375.

YOUNG, E. 2006. *Brucella spp.* In: Gillespie, S.; Hawkey, P. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2° Edición. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex. Chichester, England. pp. 265- 271.

ZAVALA, M.; MORALES, S. 2016. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella canis* en perros del Distrito de Pucusana, Lima, Perú. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 27(2): 370- 374.

ANEXOS

Anexo 1 (Encuesta).



INFORMACIÓN DEL PACIENTE

Muestra N° _____

Nombre de mascota: _____ Raza: _____

Comuna: _____ Sexo: ♂ ♀ Fecha: _____

Dirección: _____

Es de usted la mascota SI NO SI NO LE PERTENECE, ESPECIFICAR DE QUIEN ES

¿De quien es la mascota? _____

Tipo de vivienda: Departamento casa ¿con patio? SI NO

Vive con otros perros SI NO **Total de perros** Incluye a la mascota en estudio.

	Edad	Esterilizado		Edad de esterilización
Perro estudio		SI	NO	
Perro 2		SI	NO	
Perro 3		SI	NO	
Perro 4		SI	NO	
Perro 5		SI	NO	
Perro 6		SI	NO	

¿En qué forma llego la mascota a su familia? Adopción Comprado

Si es adopción: Calle Canil municipal Particular

Otro _____
Especificar donde

Si es Comprado:

Pet shop

Criadero

Particular

Otro

Especificar donde

Acceso a la calle

SI

NO

Se ha escapado

Explicación: Si sale con correa, pero además se ha escapado, marcar ambas opciones.

Forma en que sale a la calle

Paseo con correa

Paseo sin correa

Libre acceso a la calle

Otro

¿Su mascota se ha cruzado?

SI

NO

No lo sabe

¿Cuántas veces se ha cruzado?

¿Se ha cruzado con más de un perro?

SI

NO

Anotar número de perros con los cuales se ha cruzado.

Nota: la información entregada en este documento es de carácter informativo, respetando la confidencialidad de los datos.

Anexo 2

Autorización para toma de muestra de sangre

Muestra N°

Los datos recopilados de cada paciente, tanto en la encuesta como en el resultado del examen, son de carácter confidencial y usados de forma general para este estudio. El resultado del examen sólo será conocido por su dueño y serán enviados al final del estudio, vía correo electrónico, sin costo alguno.

Autorizo la toma de una muestra de sangre a mi mascota con el fin de realizar un estudio prevalencial de Brucelosis canina dentro del Gran Santiago.

Los resultados de estos exámenes serán enviados al correo:

Agradecemos su cooperación en este estudio.

Dr. Pedro Ábalos. Profesor Favet, Universidad de Chile.

Francisco Sánchez. Tesista Favet, Universidad de Chile.

FIRMA



Anexo 3

Protocolo para estudio y toma de muestras.

- ∂ Realizar toma de muestras a pacientes con dueño.
- ∂ Seleccionar muestras a través de muestreo aleatorio simple (cada un cierto número de pacientes, dependiendo del número de pacientes vistos en la clínica)
- ∂ Pedir consentimiento firmado del dueño o encargado del paciente, junto con el folleto sobre Brucelosis canina.
- ∂ Realizar la encuesta, con letra imprenta en las zonas donde hay escrito.
- ∂ Se deben rotular claramente en todas las muestras en el tubo sin anticoagulante, con el CÓDIGO DE LA ENCUESTA y nombre del paciente, de forma clara y legible.
- ∂ El tiempo de aplicación del torniquete: si se mantiene más tiempo de lo recomendable (1-2 minutos) puede producirse una hemoconcentración, con el consiguiente aumento de determinados parámetros.
- ∂ En las extracciones de sangre, la punción debe ser lo más fluida posible, evitando “explorar” con la aguja para evitar la hemólisis.
- ∂ En los pacientes con sueros terapéuticos se recomienda extraer la muestra de sangre del lado opuesto al que se tiene la infusión, o antes de aplicar el suero y/o la anestesia y hemodiluir la sangre.
- ∂ Extraer un mínimo de 1 ml por paciente.

- ∂ Mantener la muestra refrigerada hasta su retiro. NUNCA congelar las muestras.

- ∂ **IMPORTANTE:** una vez extraída la muestra de sangre por jeringa, retirar aguja y verter la sangre al tubo, NUNCA con la aguja puesta, ya que esto provocará que la muestra se hemolice.

Anexo 4

Tabla 6: Comparación en los valores obtenidos con 392 y 449 muestras, de las variables independientes consideradas en el estudio.

Parámetro	O.R.	P- Valor	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Número de muestras
Total de perros que viven juntos	1,12	0,0173	1,02	1,23	392 *
Edad (en años)	1,18	0,0037	1,06	1,32	
Total de perros que viven juntos	1,15	0,0006	1,06	1,25	449
Edad (en años)	1,20	0,0002	1,09	1,32	

*Los valores obtenidos con 392 muestras, considera la variable independiente “Número de cruas” en el modelo de regresión logística múltiple.

Tabla 7: Modelo de regresión logística múltiple, incluyendo la variable “Adquisición comprados”, con 392 muestras.

Parámetro	O.R.	P- Valor	Error Estandar	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	Est.
Adquisición Comprado	2,47	0,0675	0,49	0,94	6,52	3,34	0,9
Total de perros	1,13	0,0101	0,05	1,03	1,25	6,63	0,12
Edad Años	1,17	0,0063	0,06	1,05	1,31	7,47	0,16
Número de cruas	1,37	0,0011	0,1	1,13	1,65	10,59	0,31