

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**

**UNAN-LEON**

**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**Tesis para optar al grado de Licenciado en Medicina Veterinaria**

Tema: Seroprevalencia frente a *Brucella abortus* en caninos de la zona urbana y suburbana de la ciudad de León en el año 2007, mediante la técnica Rosa de Bengala.

Presentada por: Br. Rommel José Molina Poveda

Tutor: Dr. Migdonio Quintanilla Darce.

León, Abril de 2008.

Dedico este trabajo a mi Poder Superior a mi Madre, mi Padre y mis hermanos que me apoyaron en todo lo necesario para que esto fuese posible. A Mig quien fue mi tutor y orientador en el tema y a los que me permitieron avanzar un peldaño más en el amplio mundo del conocimiento.

## INDICE

	Paginas
I.- <b>Introducción</b> -----	1
II.- <b>Planteamiento del problema</b> -----	2
III.- <b>Justificación</b> -----	3
IV.- <b>Objetivos</b> -----	4
V.- <b>Marco teórico</b> -----	5
1.- Etiología.-----	5
2.- Epidemiología-----	5
3.- Transmisión-----	7
4.- Patogenia-----	7
5.-Cuadro Clínico-----	9
6.-Hallazgos Histopatológicos-----	11
7.-Diagnostico-----	11
8.-Tratamiento, Control y Profilaxis-----	14
9- La Brucelosis como Zoonosis-----	16
VI.- <b>Hipótesis</b> -----	17
VII.- <b>Material y Método</b> -----	17
VIII.- <b>Resultados</b> -----	21
IX.- <b>Discusión de los Resultados</b> -----	22
X.- <b>Conclusiones</b> -----	23
XI.- <b>Recomendaciones</b> -----	24
XII.- <b>Bibliografía</b> -----	25
XIII.- <b>Anexos</b> -----	28

## I. INTRODUCCIÓN

La Brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa de distribución mundial, que afecta a animales domésticos, silvestres y al hombre. A pesar que el impacto económico no es tan importante como el de las brúcelas clásicas, no pueden minimizarse 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.

Otro factor de gran interés es la rápida capacidad de diseminación, no sólo debida a características propias de la bacteria, sino también al gran movimiento de la población canina dentro y fuera de los límites departamentales y por que no decir los nacionales.

La Brucelosis canina es una patología de singular importancia ya que es una enfermedad que involucra tanto a la Medicina Veterinaria como a la Salud Pública. La infección de los caninos produce no solo fallas reproductivas manifestadas como abortos, sino también perdida económica en los criaderos que la padecen. A esto se le debe sumar el riesgo de infección al humano, donde la convivencia del canino y el hombre es muy cercana.

Siendo producida principalmente por *Brucella canis*, sus hospedadores mas frecuentes son los caninos sexualmente maduros en los que pueden o no aparecer los signos clínicos. La enfermedad es de carácter crónico.<sup>1</sup>

En este estudio se genera información de la seroprevalencia de Brucelosis canina, ya que hasta la fecha no existe evidencia nacional publicada sobre este tema.

## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

No existe información sobre Brucelosis en caninos en la Ciudad de León, pero si se sabe que esta presente en otras especies.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

En nuestro país no se tienen referencias concretas de la presencia de esta enfermedad. Al realizar este estudio se pretende establecer evidencia serológica de la enfermedad, partiendo de la ingestión de alimentos contaminados con la bacteria y los factores accidentales que pueden provocarla con el objetivo de manejar correctamente a los reactores e informar a los propietarios y autoridades correspondientes.

#### **IV. OBJETIVOS**

**General:** Determinar la seroprevalencia frente a *Brucella abortus* en la población canina de la zona urbana y suburbana de la Ciudad de León, utilizando Rosa de Bengala.

**Específicos:**

Realizar diagnóstico con la técnica Rosa de Bengala.

Aportar información de la prevalencia de Brucelosis en caninos en la Ciudad de León.

Contribuir al fortalecimiento del desarrollo local con la información suministrada

## V. MARCO TEÓRICO.

### **Etiología.**

La *Brucella canis* es una bacteria que se localiza intracelularmente, es un (cocobacilo) (0.5 a 0.7  $\mu\text{m}$  por 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ ), Gram-negativo, inmóvil, no esporulado. Requiere biotina, niacina y tiamina para su crecimiento con incubación a 37°C, por 48 – 72 horas, en medios como agar brucella, agar tripticase soya, agar Thayer Martín modificado y Ruiz Castañeda pero no requiere atmósfera de CO<sub>2</sub>. *Brucella canis* crece en colonias pequeñas, es catalasa y oxidasa positiva, produce ureasa, reduce nitratos a nitritos, es citrato negativo, rojo de metilo negativo y no produce H<sub>2</sub>S. Lo mismo que *Brucella ovis*, las colonias son rugosas como consecuencia de la carencia de la cadena “O” del lipopolisacárido (LPS).<sup>25</sup>

### **Epidemiología.**

El primer aislamiento de *Brucella canis* se realiza en una perra de raza Beagle en el año 1966 en EE.UU. (Leland Carmichael), durante una epidemia de abortos en criaderos, a partir de tejidos fetales y descargas vaginales post-aborto; y desde esa fecha ha sido reconocida como la causante de importantes pérdidas económicas en criaderos de perros en diversos lugares del orbe. Es especialmente común en México y Sudamérica y en los estados del sur de EE.UU., también ha sido diagnosticada en perreras comerciales o de investigación en varios países más, incluyendo Japón y la República Popular China. La enfermedad ha sido reportada esporádicamente en Europa.

La Brucelosis canina tiene un foco mayor de prevalencia entre los establecimientos de reproducción, pero ya en algunos países se comienzan a dar cuadros en mascotas que han provenido de esos criaderos y también en perros hogareños y de la calle sobre los cuales no existe ningún control reproductivo especial. El contagio ocurre principalmente a través de contacto con secreciones vaginales de perras infectadas (celo, parto, posparto y aborto). Los machos excretan bacterias en el semen, y aunque en ambos sexos existe excreción de bacterias por la orina, las concentraciones en el macho son

más altas, razón por la cual la orina del macho es más peligrosa como fuente de infección. La excreción por orina comienza alrededor de 4 a 8 semanas post-infección y el número de bacterias es relativamente bajo, excepto cuando la orina está contaminada con fluidos seminales ó prostáticos. Considerando las vías de contagio, evidentemente, las probabilidades son más altas en animales que permanecen en estrecho contacto y sometidos a un manejo reproductivo intensivo. Por ello es más común que ocurra en criaderos o en machos reproductores. La transmisión venérea es la principal forma de contagio entre perros sexualmente maduros de distinto sexo, mientras que en los prepúberes la transmisión extrauterina se realiza fundamentalmente por vía oronasal mediante contacto directo o indirecto con orina, semen, material abortado, secreciones vaginales y leche. La transmisión también puede ocurrir por vía intrauterina o congénita; si bien se reconoce la invasión vía placentaria, el hallazgo de líquido amniótico y leucocitos en el estómago de neonatos abortados sugiere que la infección también sería por ingestión de este fluido. Los animales asintomáticos pueden albergar *Brucella canis* por períodos prolongados. El tiempo desde la infección inicial a la bacteremia es de aproximadamente 3 semanas, luego el microorganismo se localiza en los órganos genitales, desde donde puede ser propagado continua o intermitentemente por un lapso que puede ir desde meses a años. En el macho la próstata y los epidídimos sirven como tejidos efectivos de emisión bacteriana, constituyéndose en sitios para la amplia diseminación si los machos son reproductivamente activos. En los primeros dos meses post-infección el semen contiene las más altas concentraciones bacterianas, para luego decrecer y seguir eliminándose de manera esporádica por años, con un huésped sin signos aparentes de enfermedad. En el caso de las hembras, las loquias y secreciones uterinas post-aborto son infectantes por períodos de 4 a 6 semanas pues contienen altas concentraciones bacterianas. *Brucella canis* tiene una vida corta fuera del huésped y se inactiva rápidamente con desinfectantes comunes. Se sabe que la concentración de bacterias en la leche es alta, sin embargo el rol de esta secreción en el contagio es controversial, así para algunos autores sería secundario ya que los cachorros se infectan primordialmente en el útero, la leche podría jugar un rol en la dispersión ambiental del agente. Como fuentes artificiales de transmisión se deben considerar las

transfusiones sanguíneas, la vaginoscopía, la inseminación artificial y el uso de jeringas contaminadas. El mayor riesgo de contaminación no sexual se da al momento del aborto donde las secreciones, que pueden contener hasta 10<sup>10</sup> microorganismos/mL, entran en contacto con las mucosas del animal sano. Se estima que la dosis infectiva mínima puede estar cercana a 10<sup>6</sup> microorganismos.<sup>12</sup>

En Colombia la bacteria fue aislada por primera vez en 1978 y en las últimas dos décadas algunos estudios reportan prevalencias de entre 10 y 20 % de animales seropositivos. En México actualmente las estadísticas revelan una tasa de un 10% de infectados. El desconocimiento de la enfermedad por parte de muchos, la falta de programas de control adecuado, situación que sumada a la alta densidad de perros vagos y callejeros, permite suponer que el control de la Brucelosis es un trabajo difícil.<sup>7</sup>

### **Transmisión.**

Machos que presentan lesiones testiculares, el semen y el líquido prostático actúan como contaminantes a partir de la 3a a 11a semanas después de iniciada la infección. La orina de perros en estado agudo puede contener (hasta 10<sup>3</sup> a 10<sup>6</sup> microorganismos/mL por posible contaminación con líquido prostático). Perras adultas se han infectado 4 a 5 meses después de cohabitar con hembras adultas infectadas.<sup>26</sup>

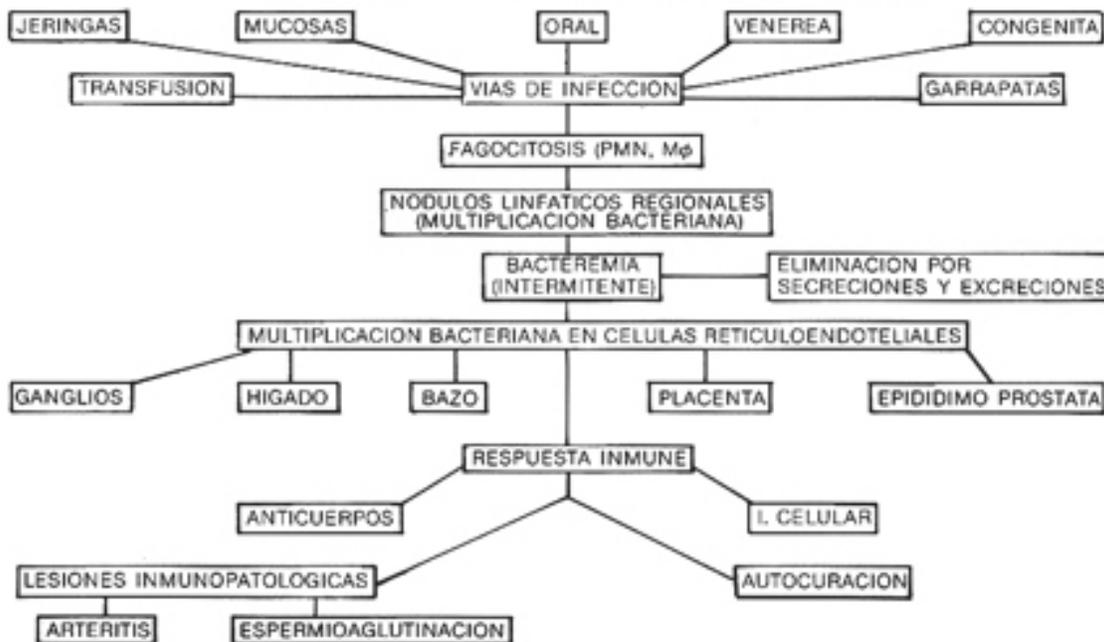
### **Patogenia.**

Independientemente de la puerta de entrada, las bacterias son fagocitadas por los macrófagos y transportadas a los ganglios linfáticos regionales: retrofaríngeos si la ruta de entrada fue oral; inguinales e iliacos si fue genital. Se produce una linfadenopatía seguida por bacteriemia detectable dos a cuatro semanas postinfección y que puede durar entre 6 a 64 meses. La bacteria se replica dentro de los linfocitos y células

linforeticulares por un período de tiempo indefinido produciendo hiperplasia y formación de granulomas en órganos como ganglios linfáticos, bazo, hígado, útero, glándula mamaria, testículos, próstata, vesículas seminales y médula ósea.<sup>3</sup>

En el animal gestante el microorganismo tiene la capacidad de atravesar la barrera placentaria, afectar al feto y producir abortos a partir de los 45 días de preñez.<sup>14</sup>

A continuación se describe en términos esquemáticos la patogenia de esta enfermedad.<sup>17</sup>



## **Cuadro Clínico.**

El cuadro clínico de la enfermedad no es suficiente para establecer un diagnóstico certero. La enfermedad es muy insidiosa debido a que los animales infectados, frecuentemente, parecen clínicamente sanos y por tanto pueden ocasionar gran cantidad de daño en los criaderos, como consecuencia de que la enfermedad se puede diseminar rápidamente antes de ser detectada. Los signos inespecíficos en ambos sexos incluyen letargia, pérdida de la libido, envejecimiento prematuro y afectación ganglionar generalizada. *Brucella canis* ha sido aislada de casos de campo de discoespondilitis. Las uveítis recurrentes han sido ocasionalmente reportadas en perros infectados después de varias semanas de infección. La enfermedad debe ser sospechada cuando existan alteraciones evidentes en la reproducción de animales que aparentemente se encuentran sanos y frente a la presencia de fallas en la concepción, abortos, epididimitis, orquitis y alteraciones espermáticas.<sup>15</sup>

## **Alteraciones reproductivas.**

### **• Hembra**

El útero no gestante no es un sitio donde *Brucella canis* se desarrolle en abundancia dado que el eritrol uterino no estimula su crecimiento (a diferencia de las cepas lisas de *Brucella*). Cuando el útero canino grávido es colonizado, la bacteria invade el epitelio trofoblástico que rodea al embrión provocando una placentitis, con el consecuente aborto. Siendo este el signo más característico, especialmente entre los 45 y 55 días de gestación y con una frecuencia de aproximadamente el 75% de los casos. El feto abortado puede presentar autólisis parcial y la perra presentar descargas vaginales de color negruzco o gris verdoso hasta por 6 semanas post-infección, estas descargas contienen una gran cantidad de bacterias y deben tomarse las precauciones necesarias para evitar el contacto directo y su diseminación. Se ha descrito que aproximadamente el 85 % de las hembras que abortan pueden gestar posteriormente con parto de crías normales, no obstante pueden seguir presentando fallas reproductivas intermitentes. Una hembra infectada puede parir crías débiles con mortalidad neonatal dentro de las

primeras 48 horas, o bien estas sobrevivir presentando una linfadenopatía periférica generalizada hasta alcanzar la pubertad, siendo bacterémicos por todo este tiempo. En algunos casos puede ocurrir muerte embrionaria temprana y reabsorción 10 - 20 días después del servicio. Cabe recordar que el diagnóstico precoz de preñez en la perra sólo es posible alrededor del día 20 a 23 post-servicio, siendo una incógnita el período previo. La Brucelosis canina no modifica las características de los celos futuros, así como tampoco las características del ciclo sexual de la perra.

#### • Macho

La manifestación más frecuente de la infección en el macho es una severa epididimitis. Durante la fase aguda el epidídimo aumenta de tamaño con evidentes señales de dolor, se puede presentar secreción serosanguinolenta en la túnica del órgano. Producto del dolor y frecuente lamido puede desencadenar una dermatitis escrotal húmeda. El daño celular en el epidídimo inflamado induce granuloma espermático dado el traspaso de material antigénico, lo cual estimula la producción de anticuerpos antiespermáticos, puede ocurrir orquitis, sin embargo ésta es menos frecuente que la epididimitis.

La inflamación de estos órganos no es supurativa, observándose, además, espermatozoides en el espacio extratubular ya sea a nivel intersticial o peritubular. Se ha descrito alteración en la línea espermátogénica, además de infiltración eritrocitaria tubular indicativo de alteraciones de la barrera hematotesticular. La extravasación espermática juega un rol en la autosensibilización con presencia de anticuerpos antiespermáticos y reacciones de hipersensibilidad tardía contra epítopes de los espermatozoides, situación que contribuye a perpetuar la epididimitis y detener la espermátogénesis en casos crónicos. Entre las alteraciones seminales destacan la disminución de volumen del eyaculado, presencia de alta cantidad de neutrófilos y macrófagos, teratozoospermia (espermatozoides morfológicamente anormales). Esta última caracterizada por acrosomas deformes, piezas intermedias dilatadas, gotas citoplasmática, colas enrolladas, cabezas desprendidas y aglutinación cabeza-cabeza. Los machos infectados crónicamente pueden tener un número reducido de

espermatozoides (oligozooespermicos) o no tener espermatozoides (azoospermicos). En la fase crónica puede haber atrofia testicular uni o bilateral. La presencia de estos anticuerpos anti-espermatozoides, probablemente contribuyen a la infertilidad del macho y generalmente, con el tiempo, estos perros llegan a ser estériles. Cabe considerar que el hecho de que estos machos siendo estériles o no, pueden continuar excretando bacterias en el fluido seminal, ya que alojan a los microorganismos en la glándula prostática y los epidídimos. Las bacterias se diseminan a través de los fluidos seminales y ocasionalmente por orina.<sup>8</sup>

### **Hallazgos Histopatológicos**

El hallazgo macroscópico más constante es la hiperplasia de ganglios linfáticos. Microscópicamente se puede encontrar infiltrado mononuclear en cualquier órgano donde el microorganismo haya colonizado. En los casos de aborto se observa una placentitis necrótica focal y lesiones con infiltrado mononuclear en diferentes órganos. En testículos se ha descrito atrofia, proliferación de linfocitos, células plasmáticas y tejido reticular, además de arteritis necrotizante y vasculitis.<sup>22</sup>

### **Diagnóstico.**

El diagnóstico de *Brucella canis* tiene tres aspectos:

#### **Clínico.**

Aunque los síntomas clínicos no son exclusivos de *Brucella canis*, los abortos, las lesiones testiculares, óseas y articulares son sugerentes de ésta enfermedad.

#### **Serológico.**

La infección por *Brucella canis* produce anticuerpos que son detectables por diferentes pruebas serológicas a partir de las 8 semanas postinfección. En forma similar a todas las infecciones por *Brucella*, en la primera fase de la respuesta inmune predomina la IgM que va siendo paulatinamente superada por la IgG, la cual caracteriza la respuesta del paciente crónicamente infectado.<sup>6</sup>

Dentro de las técnicas serológicas se encuentran: Prueba de tarjeta o rosa de bengala, Prueba de rivanol, Prueba de anillo en leche (Ring test), Inmunodifusión radial con hapteno activo, Prueba de inmunodifusión en agar, Fijación del complemento (FC).<sup>2</sup>

### **Rosa de Bengala.**

En 1967 Pietz Y Schilf desarrollaron esta prueba utilizando un antígeno acidificado que consiste en una suspensión de *Brucella abortus* cepa 119 – 3 en una concentración de 8 % amortiguada a un pH de 3.65 +/- 0.5 y teñida con Rosa de bengala. La técnica Rosa de bengala es una prueba de aglutinación rápida muy eficaz. La cual posee una sensibilidad del 94.1 % y una especificidad del 98 %.<sup>9</sup> El medio ácido en el que se efectúa la prueba favorece considerablemente la expresión del componente aglutinante de los anticuerpos. Su sensibilidad y especificidad para identificar anticuerpos aglutinantes anti-*Brucella* es muy elevada, de tal forma que solo excepcionalmente resulta negativa en la fase aguda de la infección y con muy poca frecuencia en las fases evolucionadas o crónicas de la enfermedad.<sup>4</sup>

### **Antígeno.**

Antígeno comercial Rosa de Bengala Paquete Celular de *Brucella abortus* Cepa 1119-3, inactivada por calor, coloreada y concentrada al 8% y con pH de 3.6 (Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, México D.F. Lote No. 3020155 Fecha de Caducidad: Marzo 2008. REG: SAGAR 3-0653-009.)

### **Prueba de 2 – mercaptoetanol.**

La mayoría de investigadores en los Estados Unidos sugieren que un título de 1/100 para la prueba de 2 – mercaptoetanol es indicativo de infección. Otros, incluyendo a la Comisión sobre Brucelosis de la Organización Mundial de la Salud, dicen que a partir de títulos de 1/200 se debe considerar un animal como positivo, sin embargo una ayuda muy valiosa en el diagnóstico es el examen de sueros pareados con intervalos de 8-12 semanas, para evaluar el incremento de títulos que se interpretaría como infección activa.

## **Bacteriológico.**

El diagnóstico definitivo de *Brucella canis* se hace por el aislamiento de la bacteria, sin embargo su sensibilidad depende de las condiciones de la toma y conservación de la muestra, del tiempo transcurrido desde el momento de la infección al examen y de la aplicación de un protocolo que garantice el crecimiento de un microorganismo complicado como son todas las especies del género *Brucella*. Sangre, secreciones vaginales postaborto y pulmón o hígado fetales son las muestras preferidas para el aislamiento. La presencia del microorganismo en sangre se puede detectar a partir de la 3a a 4a semana postinfección y puede durar hasta un año y quizás más, en el 80 a 100% de los animales. Esta positividad se presenta en una forma intermitente e incluso los animales crónicos pueden llegar a ser persistentemente abacterémicos. El hemocultivo es la mejor prueba diagnóstica para infecciones tempranas, teniendo en cuenta que en las 4 primeras semanas postinfección las pruebas serológicas y los cultivos de semen y orina son aún negativos.

Los hisopados vaginales una vez ha cesado la descarga no contienen la bacteria. Cuando se pretende aislar *Brucella canis* a partir de muestra de semen la mayor sensibilidad se tiene entre 3a a la 11a semanas después de la infección, a partir de la semana 12 el número de microorganismos en el eyaculado va disminuyendo y muy probablemente a la semana 60 el cultivo será negativo a pesar de que el animal continúe infectado. Por lo general no hay alteración en el cuadro hemático ni en valores bioquímicos o del uroanálisis. Ocasionalmente puede detectarse una hiperglobulinemia. En el espermograma, en la fase inicial de la infección se observan defectos morfológicos en cabeza, cuerpo y cola de los espermatozoides, y abundantes células inflamatorias; en los casos crónicos además de las anormalidades de los espermatozoides, estos se encuentran aglutinados o fagocitados con disminución en su número y motilidad.

El diagnóstico diferencial, en caso de abortos, se hace con *Streptococcus beta hemolítico*, *Escherichia coli hemolítica* y Herpesvirus canino dependiendo de si hubo aborto, muerte neonatal o nacidos muertos a término.<sup>28</sup>

## **Tratamiento, Control y Profilaxis.**

Cuando el animal positivo pertenece a un criadero no se recomienda tratamiento sino su eliminación inmediata y la evaluación serológica de todos los animales que conforman el criadero. Después de esto el criadero debe realizar muestreos generales con intervalos de 8 a 12 semanas. Las hembras que aborten deben separarse del resto del grupo hasta que se descarte la presencia de la enfermedad. A los animales nuevos se les debe realizar dos chequeos serológicos mensuales y mantenerlos separados. Cuando el animal positivo es de compañía, la decisión de tratar o de sacrificar dependerá de: el tipo de lesiones que tenga, los cuidados de los propietarios para disminuir los riesgos de contaminación, el seguimiento que se le pueda llevar y la cronicidad de la enfermedad. Si se elige el tratamiento el animal debe ser esterilizado por castración. Mientras los tratamientos no sean efectivos y no exista una vacuna que genere una buena inmunidad, lo único que se puede hacer para controlar la enfermedad es evitar la exposición al microorganismo.<sup>5</sup>

Luego de numerosos ensayos realizados para controlar y erradicar la enfermedad en criaderos, se llegó a la conclusión que el único método efectivo, aunque drástico, es aquel que al diagnosticar un animal como positivo se elimina definitivamente del criadero. Se recomienda que el diagnóstico serológico sea realizado mensualmente como una manera de detectar todos los animales con infección reciente. Se han requerido cuatro o cinco meses para obtener un criadero libre. La eliminación debe ser entendida como eutanasia, ya que el aislamiento físico dentro del mismo criadero no ha permitido la completa eliminación de la bacteria. Conservar, transar o utilizar reproductores infectados, estaría reñido con las normas elementales de la ética profesional.

Una vez que el criadero sea declarado libre de la enfermedad, deben controlarse todos los animales nuevos que ingresen, realizándoles dos pruebas serológicas seriadas con un intervalo de 30 días. Lo mismo para los animales que deban trasladarse temporalmente a otros lugares.

Estas medidas deben necesariamente ir acompañadas de una rigurosa limpieza y desinfección. *Brucella canis*, a pesar de que figura como una de las bacterias más resistentes a las condiciones ambientales, muestra sensibilidad a los desinfectantes de tipo iodóforos y a los derivados amonio cuaternarios.<sup>21</sup>

Algunos autores señalan la castración como un método de control, pues evita la transmisión venérea, sin embargo su aporte es mínimo al considerar las otras vías de infección.

Todo esfuerzo para controlar la Brucelosis en un criadero se verá disminuido si no se controla adecuadamente la población de perros vagos, ya que constituyen el principal factor de diseminación entre un área y otra. Estudios serológicos revelan una alta prevalencia en dicha población, incluso en algunos casos es más elevada que la encontrada en perros con dueños.<sup>18</sup>

El tratamiento con antibióticos de la Brucelosis canina no ha resultado enteramente satisfactorio. Se han intentado diferentes principios activos solos o asociados que a pesar de tener buenos resultados invitro, no logran la curación definitiva debido muy posiblemente a la localización intracelular de la bacteria.<sup>16</sup>

De acuerdo con Shin y Carmichael en 1999, los mayores éxitos terapéuticos se obtienen cuando se aplican en los tres primeros meses de la infección utilizando combinaciones que incluyen una tetraciclina; como clortetraciclina, doxiciclina o minociclina, con estreptomina. Un esquema a utilizar puede ser: dihidroestreptomina 10 mg/Kg. IM, 2 veces al día, por 7 días, junto con una tetraciclina 25 mg/Kg. oral, tres veces al día, por 4 semanas. Durante los últimos 7 días se repite el tratamiento con estreptomina. Terminado el tratamiento se debe monitorear al animal por tres a seis meses realizando un hemocultivo y serología cada mes. Es importante resaltar que la respuesta a la terapia antibiótica es más exitosa en infecciones tempranas y a medida que va aumentando la cronicidad el pronóstico es más desfavorable.<sup>27</sup>

## **LA BRUCELOSIS COMO ZONOSIS.**

Aunque el huésped natural está limitado a perros domésticos y salvajes, el humano se puede infectar al entrar en contacto con secreciones uterinas, placenta y fetos cuando se presentan abortos o en accidentes de laboratorio, produciendo un cuadro clínico con sintomatología similar a la que producen las otras especies de *Brucella* que atacan al humano.

El hombre y los primates son regularmente poco sensibles a la infección por *Brucella canis*. El primer caso de Brucelosis en el hombre fue descrito en Estados Unidos en el año 1967; a partir de esa fecha se han notificado numerosos casos en todo el mundo.

La predilección de las familias por incorporar perros en sus viviendas es una costumbre muy antigua, cuya consecuencia más directa ha sido la creación de un fuerte lazo afectivo con dichos animales. Así, la convivencia es cada vez más estrecha, especialmente en los niños, quienes ven a sus mascotas como compañeros inseparables. Esta costumbre hace que los riesgos de infección sean cada vez mayores.

A pesar de que la enfermedad no es sólo de riesgo profesional, es importante que el clínico menor adopte todas las medidas de protección cuando examine un paciente sospechoso.

La fuente de infección más común sería a través del contacto directo con tejidos abortados y especialmente con descargas vaginales. No siempre se ha podido establecer la fuente de infección, situación que hace más difícil la prevención de la enfermedad en el hombre.

El tratamiento es bastante convencional y considera el uso de tetraciclina sola o en asociación con estreptomycinina durante tiempos prolongados.<sup>23</sup>

## **NORMAS NACIONALES**

Lo contenido en la LEY BÁSICA DE SALUD ANIMAL Y SANIDAD VEGETAL Ley No. 291, Aprobada el 16 Abril 1998. Publicado en la Gaceta No. 136, del 22 Julio 1998. <sup>11</sup>

## **VI. HIPOTESIS**

No hay diferencia en la prevalencia esperada con la prevalencia observada.

## **VII. MATERIALES Y MÉTODO**

Se realizó un estudio para determinar la seroprevalencia de brucelosis canina en perros de la zona urbana y suburbana de la Ciudad de León que se sitúa a unos 20 km de la costa pacífica en una posición geográfica de 12° 26' al norte (latitud) y 86° 53' al oeste (longitud) <sup>10</sup>. En el que se tuvo como objeto de estudio la variable de análisis: seroprevalencia de Brucelosis en perros. Se trabajó con una población de 7500 caninos (universo), entre hembras y machos.

Para la realización del muestreo en el territorio se tomó como referencia la distribución de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud (MINSA) en el SILAIS de León.

### **TIPO DE ESTUDIO.**

El tipo de estudio es transversal. <sup>19</sup>

### **Tamaño de muestra.**

Para la determinación del tamaño de muestra, se realizó cálculo utilizando el programa Win Episcopo 2.0, determinación de porcentajes. A partir de una población de 7500 caninos, con una prevalencia esperada de 30 %, un error aceptado del 5 % y un nivel de confianza del 95 %.<sup>20</sup> El tamaño de la muestra es de 323 caninos.

### **Selección de la muestra.**

La muestra fue seleccionada de forma aleatoria.

### **Unidad de análisis.**

La unidad de análisis es sangre canina.

### **Criterios intrínsecos.**

Se tomó muestra de caninos mayores de seis meses, sexualmente maduros, de ambos sexos sin tener en cuenta raza o grupo racial.

### **Criterios extrínsecos.**

Se muestreó perros en casas y en comunidades caninas.

1. domésticos y en vida libre
2. alimentados con:  
Concentrado, vísceras, desperdicios, etc

### **Limitantes.**

1. Económicas.
2. Desconfianza de los propietarios al prestar al espécimen para la toma de muestra.

### **MÉTODOS**

#### **PRUEBA DE ROSA DE BENGALA (TARJETA O CARD-TEST)**

Esta prueba es un procedimiento cualitativo rápido de aglutinación que se efectúa con una sola dilución y que detecta los Ac IgG. El fundamento es la inhibición de los anticuerpos de baja afinidad con actividad inespecífica, aumentando de esta manera la especificidad de la prueba.

#### **Técnica**

1. Dejar que el suero y el antígeno alcancen la temperatura ambiente por lo menos 35 minutos a 1 hora.
2. Mezclar suavemente el suero antes de colocarlo en la placa de vidrio. Con la pipeta de Bang poner 0.030 ml de suero en la placa de vidrio cuadrículada aspirando el suero y adicionar la gota desde la marca de 0.04 ml hasta de 0.01 ml. Esto se hace con un ángulo de 45°. Si posee pipetas con medidas en microlitos se ponen 30 ul en la placa de vidrio cuadrículada.
3. Depositar 0.03 ml (30 ul) del Ag al lado del suero. Mezclar con un aplicador las dos soluciones en forma circular hasta llegar a un diámetro de 2 a 3 cm. Después de mezclar se mueve la tarjeta en forma circular durante 4 minutos. Si hubo

aglutinación el suero tiene anticuerpos y la muestra es positiva, sino será negativa.<sup>24</sup>

### **Interpretación**

La reacción positiva es un indicador de infección muy probable. Es aconsejable utilizar la prueba como tamiz y someter los sueros que presentan algún tipo de reacción a una prueba confirmatoria como, por ejemplo, la de aglutinación lenta o la de fijación de complemento.

### **Precauciones**

1. El antígeno debe mantenerse refrigerado a una temperatura de 4° a 8° C. se debe evitar su congelación, porque queda inutilizado para la prueba.
2. Tanto el antígeno como el suero deben mantenerse a temperatura ambiente por lo menos una hora antes de realizar la prueba.
3. Los goteros deben lavarse con agua destilada al terminar la jornada de trabajo.

### **Toma de muestra de sangre**

La sangre se extraerá de la vena cefálica mediante punción y presión digital. Se desinfecta la zona y se realiza venopunción con aguja calibre 18 desechable, en dirección longitudinal al vaso. Una vez tomada la muestra, verterla en tubos de ensayo de 5 ml sin anticoagulante. Se realiza centrifugado de la sangre para extracción del suero a 3000 rpm en un tiempo de 5 minutos.

## **Materiales**

1. Jeringas desechables de 10 ml.
2. Agujas desechables calibre Nº 21.
3. Tubos de ensayo de 5ml sin anticoagulante.
4. Alcohol al 70%.
5. Algodón.
6. Gradillas.
7. Vitaminas (extracto de hígado)
8. Guantes de látex.
9. Fichas de registro.
10. Bozal
11. Termo contenedor de muestras.
12. Pipeta automática.
13. Puntas de Pipeta.
14. Microviales.
15. Papel Toalla.
16. Porta Objeto.
17. Palillos desechables

## VIII. RESULTADOS

1. Se determinó que la seroprevalencia de Brucelosis en caninos es del 0.01 %, utilizando la prueba Rosa de Bengala.
2. La prevalencia de la muestra es del 0.31 %, utilizando la prueba Rosa de Bengala.
3. De la muestra obtenida, 322 especímenes, el 99.69 % de esta no reaccionaron, teniéndose como reactor solamente un espécimen.
4. La zona de trabajo correspondiente al Centro de Salud “Perla María Norori”, es la que presenta al animal reactor.
5. A partir de la información obtenida rechazamos la hipótesis nula.

## **IX. DISCUSION DE LOS RESULTADOS**

1. La seroprevalencia del 0.01 % utilizando la prueba Rosa de Bengala es significativa ya que introduce datos no existentes en esta población.
2. La posibilidad de contagio del canino reactor a sus propietarios, principalmente a través del mecanismo de transmisión indirecto es una constante debido al estrecho contacto con ellos.
3. De acuerdo a diversos actores se pueden entorpecer los resultados obtenidos a través de Rosa de Bengala, esto por la acción de bacterias y procesos activos, aunque en el presente trabajo estos no se analizaron.
4. Una prevalencia tan pequeña en una población dispersa y con distintos sistemas de manejo, puede sugerir un falso positivo, sin embargo esto habrá que corroborarlo con pruebas más específicas y sensibles.

## **X. CONCLUSIONES**

1. Se confirmó la presencia serológica de Brucelosis en caninos en las zonas de trabajo de la Ciudad de León.
2. Se establece la seroprevalencia de Brucelosis en caninos de la ciudad de León en 0.01 %, utilizando de prueba Rosa de Bengala.
3. Se rechaza la hipótesis nula.
4. Se debe realizar seguimiento epidemiológico a los caninos de las zonas objeto de estudio ya que se debe descartar la posibilidad de existencia de más casos.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Elaborar y cumplir un programa zoonosanitario para evitar las enfermedades en los animales y aquellas que puedan ser transmitidas al hombre.
2. Continuar la investigación durante todo un año, con frecuencia mensual para conocer mejor el comportamiento de la enfermedad.
3. Tomar muestras de sangre a los propietarios de caninos con el fin de descartar la presencia de Brucelosis en humanos.
4. Capacitar a los propietarios para aumentar el conocimiento sobre el manejo de mascotas.
5. Contribuir con esta información al establecimiento de leyes que protejan la salud y el bienestar de estos animales.

## **XII. BIBLIOGRAFÍA.**

1. Alton G.G.- Jones L.M. - Pietz D.E. Las técnicas de laboratorios en la Brucelosis. Organización mundial de la salud. Ginebra Pág. 43. 1978.
2. Arancibia, H. F., Castillo D.G,. Brucelosis: Técnica de difusión en agar para el diagnostico de la epididimitis de los carneros. Pág. 34.1997.
3. Bori, E, C.F. Brucelosis canina: efecto protector de una vacuna Brucella abortus Cepa 19 variante rugosa, en un modelo de cobayos. Pág., 67. 1984.
4. Cardinal Javier Ariza. Brucelosis: Aspectos actuales de principal interés. Servicio Enfermedades Infecciosas, Pág. 55. 2001.
5. Díaz, E. Hernández, L. Valero, G. Arellano, B. INIFAP, IICA, OPS. Situación de la Brucelosis en América: Panorama General. Diagnóstico de Brucelosis Animal. Pág. 45., 2001.
6. García – Carrillo. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de la brucelosis. Pág. 20. OPS-OMS. 1982.
7. <http://MEVEPA/CHILE.com> 10/11/07
8. <http://MEVEPA/chile.com> 10/11/07
9. <http://sameens.dia.uned.es>
10. <http://inmonica/mleon.htm>. Mapas de la ciudad de león, Nicaragua (INMONICA)
11. La Gaceta No. 136, del 22 Julio 1998, LEY BÁSICA DE SALUD ANIMAL Y SANIDAD VEGETAL Ley No. 291.

12. Pinochet L. Pinto, D' Aguiar., Brucelosis canina: Prevalencia y control de criaderos, Pág., 41. 1985.
13. Pinochet, L., Mora, L., Sanchez, M. L., Contreras, C. (1979). Brucelosis canina: investigación serológica en criaderos del Área Metropolitana. II Congreso Nac. Med. Vet. Valdivia Chile. 037.
14. Sanchez, M. L., Castillo, D., Pinochet, L., Abalos, P., Laserre, M. Utilización de dos técnicas serológicas en el diagnóstico de brucelosis canina. Av. Cs. Vet. N° Extr. SA. 068 Pág. 55, 1985.
15. Sanchez, M. L., Castillo, D., Pinochet, L., Abalos, P., Laserre, M. (1985). Utilización de dos técnicas serológicas en el diagnóstico de brucelosis canina. Av. Cs. Vet. N° Extr. SA. 068.
16. Saunders BM, Liu Z, Zhan Y, Cheers C. Interleukin-6 production during chronic experimental infection. Immunol Cell Biol 1993; 71: 275-80.
17. Serikawa, T., Kondo, Y. Muraguchi, T., Yamada, J. Multiplicación de *Brucella canis* en órganos reproductivos de hembras y detección en auto anticuerpos en los espermatozoides. Pág. 73, 1983.
18. Teixeira-Gomes A, Cloeckert A, Zygmunt MS. Characterization of heat, oxidative, and acid stress responses in *Brucella melitensis*. Infect Immun 2000; 68(5): 2954-61.
19. Thrusfield, Michael, Epidemiología veterinaria. Editorial Acribia, S.A. Pág. 207. 1995.

20. Thrusfield, W. Ortega, C. De Blas I, Frankena, K, Noordhuizen J. Win Episcopo 2.0 Improved epidemiological software for veterinary medicine. Vet. Rec. (en prensa).
21. [Trekamundi.com./22/11/06](http://Trekamundi.com./22/11/06)
22. Vásquez, F., Hernández, R. Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para las enfermedades de las Listas A y B de los mamíferos, pájaros y abejas. Pág. 67 a 70. 1996.
23. Vásquez, F., Hernández, R. Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para las enfermedades de las Listas A y B de los mamíferos, pájaros y abejas". O.I.E. (1996) Pág. 34 a 40.
24. Velásquez Q. F, Vázquez N. J, Mancera M. A, Díaz AE, Tercero AM, García V. y Morilla GA. MAG – FOR., Manual de Técnicas Diagnosticas., Pág. 67 – 68. 1997.
25. [www.brucelosiscanina.com/](http://www.brucelosiscanina.com/) Servicio de Educación para el consumidor. 03/05/07
26. [www.acepra.com.ar/05/08/07](http://www.acepra.com.ar/05/08/07)
27. [WWW.FOYEL.COM](http://WWW.FOYEL.COM) 05/09/07
28. [www.Mascotia.com./05/09/07](http://www.Mascotia.com./05/09/07)

## ANEXOS

### SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN DIFERENTES PAÍSES.<sup>13</sup>

Cuadro Nº 1

<b>Autores</b>	<b>País</b>	<b>%</b>
Azuma e Isayama (1973)	Japón	1.6
Mc Williams (1974)	Perú	19.0
Myers y col. (1974)	Argentina	18.3
Von Kruedner (1974)	Alemania	10.3
Flores-Castro y Segura (1975)	México	28.0
Sandoval y col. (1976)	Brasil	9.1
Baluyut y Dugui-es (1977)	Filipinas	10.0
Higgins y col. (1979)	Canadá	1.6
Taylor (1980)	Inglaterra	1.2
Sánchez y col. (1984)	Chile	13.0

CENTRO DE SALUD DE SUBTIAVA																
No.	ITEM	VARIABLE	S	%	PC	%	G	%	MA	%	CC	%	CBME	%	Total	%
1	Raza	Criollo	35	100%	30	100%	24	96%	23	100%	40	100%	38	100%	190	99%
		Pastor Aleman	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Cooker	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Boxer	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Pitbull	0	0%	0	0%	1	4%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%
		Dalmata	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Chow chow	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Pekines	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		<b>TOTAL</b>		<b>35</b>		<b>30</b>		<b>25</b>		<b>23</b>		<b>40</b>		<b>38</b>		<b>191</b>
2	Sexo	Macho	26	74%	16	53%	13	52%	13	57%	25	63%	25	66%	118	62%
		Hembra	9	26%	14	47%	12	48%	10	43%	15	38%	13	34%	73	38%
		<b>TOTAL</b>	<b>35</b>		<b>30</b>		<b>25</b>		<b>23</b>		<b>40</b>		<b>38</b>		<b>191</b>	
3	Edad	6 Meses - 1 Año	10	29%	0	0%	0	0%	3	13%	11	28%	2	5%	26	14%
		1 Año - 2 Años	5	14%	4	13%	1	4%	0	0%	7	18%	13	34%	30	16%
		2 Años - 3 Años	9	26%	7	23%	8	32%	8	35%	12	30%	14	37%	58	30%
		3 Años - 4 Años	3	9%	5	17%	7	28%	2	9%	3	8%	3	8%	23	12%
		4 Años - 5 Años	6	17%	4	13%	5	20%	1	4%	4	10%	2	5%	22	12%
		5 Años - 6 Años	1	3%	5	17%	2	8%	2	9%	0	0%	2	5%	12	6%
		6 Años a mas	1	3%	5	17%	2	8%	7	30%	3	8%	2	5%	20	10%
		<b>TOTAL</b>	<b>35</b>		<b>30</b>		<b>25</b>		<b>23</b>		<b>40</b>		<b>38</b>		<b>191</b>	
4	Alimentación	Concentrado	15	43%	9	30%	0	0%	8	35%	15	38%	0	0%	47	25%
		Menudo de Pollo	10	29%	2	7%	0	0%	5	22%	3	8%	0	0%	20	10%
		Sobras de comida	6	17%	15	50%	25	100%	7	30%	15	38%	38	100%	106	55%
		Pellejo/ Visceras	4	11%	4	13%	0	0%	3	13%	7	18%	0	0%	18	9%
		<b>TOTAL</b>	<b>35</b>		<b>30</b>		<b>25</b>		<b>23</b>		<b>40</b>		<b>38</b>		<b>191</b>	
5	Reactores	Positivo	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
		Negativo	35	100%	30	100%	25	100%	23	100%	40	100%	38	100%	191	100%
		<b>TOTAL</b>	<b>35</b>		<b>30</b>		<b>25</b>		<b>23</b>		<b>40</b>		<b>38</b>		<b>191</b>	

<b>S</b>	Subtiava
<b>PC</b>	Poneloya Ciudadela
<b>G</b>	Goyena
<b>MA</b>	Marbelly Aguerri
<b>CC</b>	Carlos Canales
<b>CBME</b>	Casa Base M. Espinoza

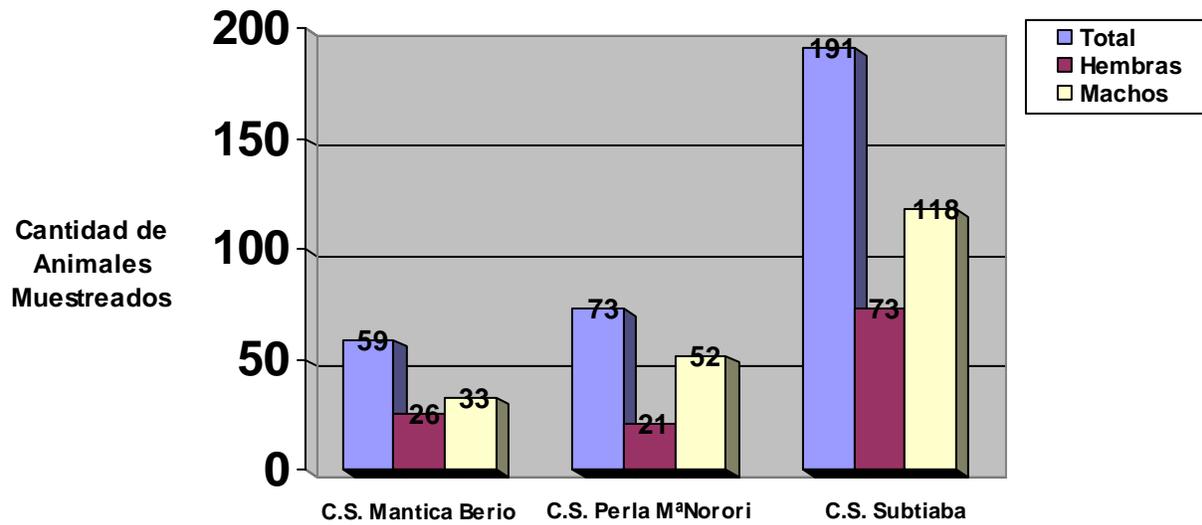
PERLA MARIA NORORI													
C	%	T	%	VI	%	MM	%	A	%	VA	%	Total	%
19	95%	14	88%	14	88%	8	100%	3	100%	10	100%	68	93%
0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
0	0%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%
0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
1	5%	0	0%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	2	3%
0	0%	0	0%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%
0	0%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%
0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
20		16		16		8		3		10		73	
16	80%	13	81%	11	69%	3	38%	3	100%	6	60%	52	71%
4	20%	3	19%	5	31%	5	63%	0	0%	4	40%	21	29%
20		16		16		8		3		10		73	
3	15%	2	13%	5	31%	3	38%	3	100%	2	20%	18	25%
5	25%	2	13%	3	19%	4	50%	0	0%	2	20%	16	22%
6	30%	5	31%	3	19%	0	0%	0	0%	2	20%	16	22%
1	5%	0	0%	2	13%	0	0%	0	0%	2	20%	5	7%
0	0%	3	19%	1	6%	1	13%	0	0%	1	10%	6	8%
2	10%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	1	10%	4	5%
3	15%	3	19%	2	13%	0	0%	0	0%	0	0%	8	11%
20		16		16		8		3		10		73	
4	20%	6	38%	9	56%	2	25%	0	0%	7	70%	28	38%
0	0%	3	19%	5	31%	0	0%	0	0%	2	20%	10	14%
13	65%	4	25%	2	13%	6	75%	3	100%	1	10%	29	40%
3	15%	3	19%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	6	8%
20		16		16		8		3		10		73	
0	0%	1	6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%
20	100%	15	94%	16	100%	8	100%	3	100%	10	100%	72	99%
20		16		16		8		3		10		73	

<b>C</b>	Cobisuba
<b>T</b>	Tangara
<b>V</b>	Vigil
<b>MM</b>	Marco A. Medina
<b>A</b>	Arrocera
<b>VA</b>	Villa 23 de Julio

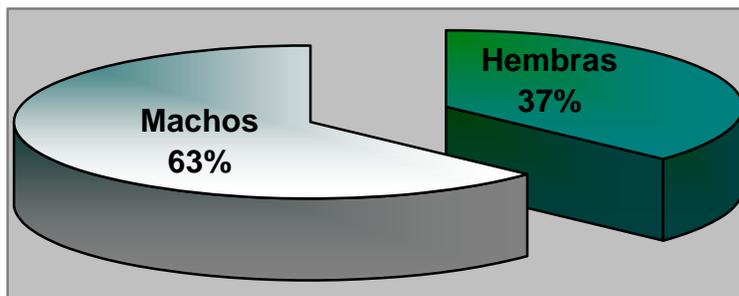
No.	ITEM	VARIABLE	MANTICA BERIO						Total general	%
			IM	%	NH	%	Total	%		
1	Raza	Criollo	33	97%	12	48%	45	76%	303	94%
		Pastor Aleman	1	3%	2	8%	3	5%	3	1%
		Cooker	0	0%	2	8%	2	3%	3	1%
		Boxer	0	0%	2	8%	2	3%	2	1%
		Pitbull	0	0%	2	8%	2	3%	5	2%
		Dalmata	0	0%	1	4%	1	2%	2	1%
		Chow chow	0	0%	0	0%	0	0%	1	0%
		Pekines	0	0%	4	16%	4	7%	4	1%
		<b>TOTAL</b>	<b>34</b>		<b>25</b>		<b>59</b>		<b>323</b>	
2	Sexo	Macho	20	59%	13	52%	33	56%	203	63%
		Hembra	14	41%	12	48%	26	44%	120	37%
		<b>TOTAL</b>	<b>34</b>		<b>25</b>		<b>59</b>		<b>323</b>	
3	Edad	6 Meses - 1 Año	8	24%	0	0%	8	14%	52	16%
		1 Año - 2 Años	6	18%	3	12%	9	15%	55	17%
		2 Años - 3 Años	6	18%	6	24%	12	20%	86	27%
		3 Años - 4 Años	5	15%	6	24%	11	19%	39	12%
		4 Años - 5 Años	5	15%	4	16%	9	15%	37	11%
		5 Años - 6 Años	4	12%	3	12%	7	12%	23	7%
		6 Años a mas	0	0%	3	12%	3	5%	31	10%
		<b>TOTAL</b>	<b>34</b>		<b>25</b>		<b>59</b>		<b>323</b>	
4	Alimentación	Concentrado	15	44%	15	60%	30	51%	105	33%
		Menudo de Pollo	9	26%	5	20%	14	24%	44	14%
		Sobras de comida	6	18%	2	8%	8	14%	143	44%
		Pellejo/Visceras	4	12%	3	12%	7	12%	31	10%
		<b>TOTAL</b>	<b>34</b>		<b>25</b>		<b>59</b>		<b>323</b>	
5	Reactores	Positivo	0	0%	0	0%	0	0%	1	0%
		Negativo	34	100%	25	100%	59	100%	322	100%
		<b>TOTAL</b>	<b>34</b>		<b>25</b>		<b>59</b>		<b>323</b>	

<b>IM</b>	Primero de Mayo
<b>NH</b>	Nuevo Horizonte

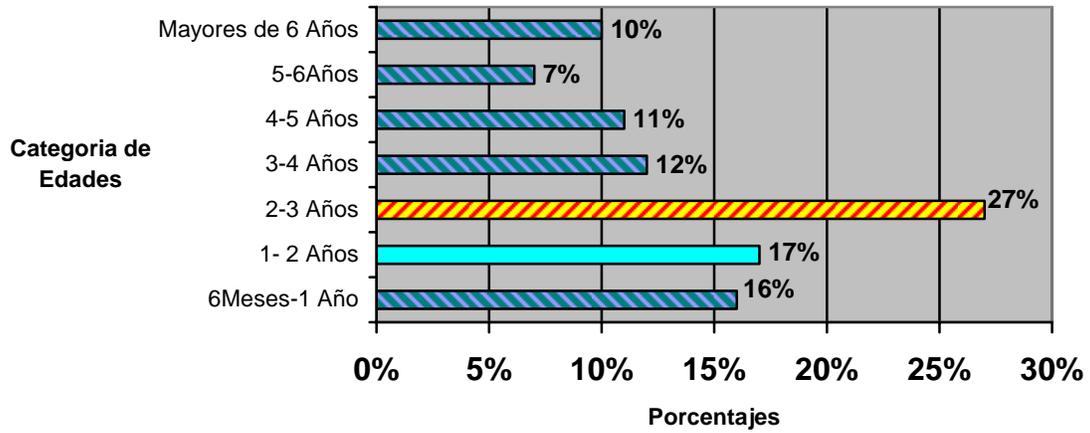
**Grafico No. 1: Total de Caninos Muestreados por Sexo y Zona de Toma de Muestras.**



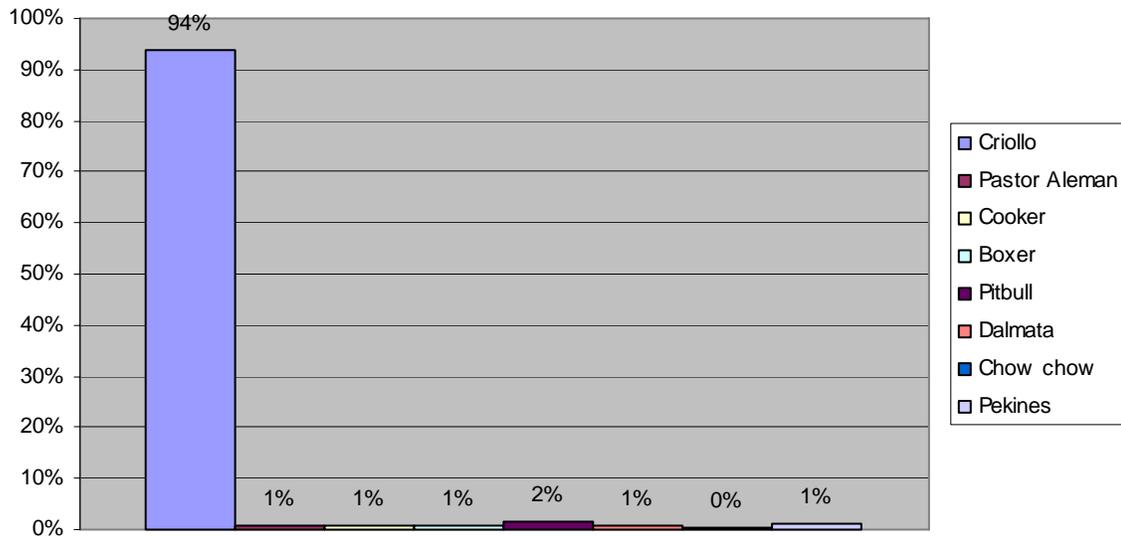
**Grafico No. 2: Porcentaje Total de Hembras y Machos Muestreados**



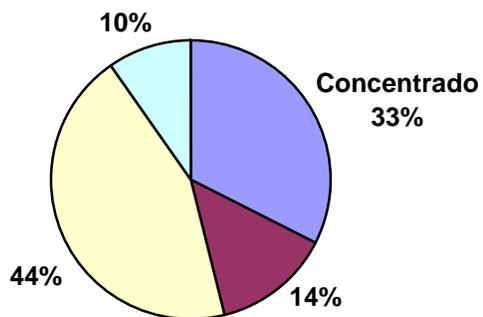
**Grafico No. 3: Rango de Edades de los Animales Muestreados**



**Grafico Nº 4 Porcentaje de Razas de los caninos muestreados**



**Grafico Nº 5 Tipo de alimentacion que ingieren los caninos muestreados**



**Grafico No. 6: Resultado del Diagnostico por Rosa de Bengala de los Caninos Muestreados**

