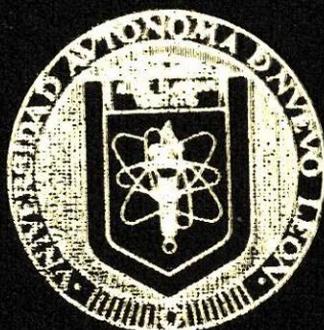


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**



**SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA CANIS  
EN PERROS CLINICAMENTE SANOS  
DESTINADOS A CRUZA EN EL AREA  
METROPOLITANA DE MONTERREY, N. L.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**FRANCISCO ADBIEL RAMIREZ BARRERA**

**MONTERREY, N. L.**

**NOVIEMBRE DE 1992**

T

SF99

R3

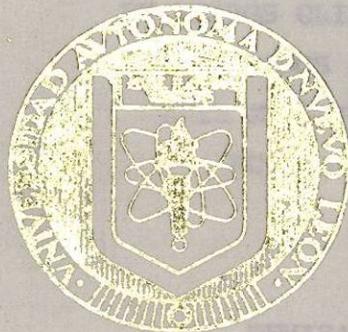
c.1



1080072715

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA



SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA CANIS  
EN PERROS CLINICAMENTE SANOS  
DESTINADOS A CRUZA EN EL AREA  
METROPOLITANA DE MONTERREY, N. L.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

FRANCISCO ADBIEL RAMIREZ BARRERA

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1992

6331

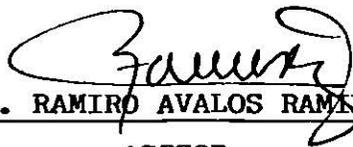
X  
SF991  
R3



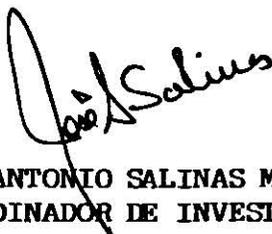
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA CANIS  
EN PERROS CLINICAMENTE SANOS  
DESTINADOS A CRUZA EN EL  
AREA METROPOLITANA DE  
MONTERREY, N.L.

REVISADA POR:

  
MVZ. RAMIRO AVALOS RAMIREZ  
ASESOR

LAB. DE PATOLOGIA CLINICA DIAGNOSTICA

  
DR. ANTONIO SALINAS MELENDEZ  
COORDINADOR DE INVESTIGACION

  
MVZ. MC. RAFAEL RAMIREZ ROMERO  
JEFE DEL DEPTO. DE PATOLOGIA

  
MVZ. ALFREDO WONG GONZALEZ  
LAB. DE PATOLOGIA CLINICA DIAGNOSTICA

## I N D I C E

	Paginas
1.-INTRODUCCION .....	1
2.-REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1.-Epizootiología.....	6
2.2.-Transmisión.....	8
2.3.-Patogénesis.....	9
2.4.-Lesiones y signos clínicos.....	10
2.5.-Diagnóstico.....	12
3.-MATERIAL Y METODOS.....	16
4.-RESULTADOS.....	19
4.1.-Comparación de las pruebas de seroaglutinación (SAT y ME-SAT).....	19
4.2.-Resultados serológicos contra <u>Brucella canis</u> de acuerdo al sexo del animal.....	20
4.3.-Comparación de la edad y la seropositividad hacia <u>Brucella canis</u> .....	21
4.4.-Resultados de la seroaglutinación hacia <u>Brucella canis</u> según la residencia del animal.....	22
5.-DISCUSION.....	23
6.-CONCLUSIONES.....	26
7.-RESUMEN.....	27
8.-BIBLIOGRAFIA.....	28

## I N D I C E   D E   T A B L A S

	Paginas
Tabla I.- Comparación de las pruebas de seroaglutinación con SAT y ME-SAT para detectar anticuerpos en perros solicitados para cruza del área metropolitana.....	19
Tabla II.- Resultados serológicos contra <u>Brucella canis</u> en perros del área metropolitana utilizando SAT y ME-SAT de acuerdo al sexo .....	20
Tabla III.- Relación de la edad con la reactividad serológica contra <u>Brucella canis</u> en caninos positivos a SAT y ME-SAT .....	21
Tabla IV.-Comparación de la seroaglutinación hacia <u>Brucella canis</u> con SAT y ME-SAT en caninos que habitan fuera ó dentro de la casa.....	22

## L I S T A D E A B R E V I A T U R A S

SAT = Prueba rápida de aglutinación en placa

MET-SAT = Prueba rápida de aglutinación en placa modificada con mercaptoetanol al 0.2 mol.

TAT = Prueba de aglutinación en tubo

AGID = Ensayo de inmunodifusión en agar gel

ELISA = Ensayo de inmunoenzimático ligado a enzima

D.F. = Distrito Federal

U.A.N.L. = Universidad Autónoma de Nuevo León

ml. = Mililitros

rpm. = Revoluciones por minuto

oC. = Grados centígrados

## AGRADECIMIENTO

A Dios: Por conservar mi vida, la cual, la gozo lleno de salud, felicidad y rodeado de personas con un gran corazón de fraternidad.

A mis padres: Sr. Adbiel Ramírez Ramos

Sra. Oralia Barrera de Ramírez

Por su confianza, sacrificios, desvelos y angustias que pasaron permitiéndome, con esto, la culminación de mis estudios de licenciatura y el sueño dorado de cualquier estudiante , la obtención de su TITULO profesional.

A mis hermanas: Dra. Mara Deyanira

Lic.Magda Doris

LIC.Miriam Drucila

Por el ejemplo que me trazaron y que me apoyaron a seguirlo con su cariño, consejos, y esa dosis quimera que no puede fallar entre hermanos.

A mis cuñados: Jose Manuel Guerra F

Hector Armando Barrera R.

Juan Ramiro Prado B.

Por su cercanía cálida en esos momentos flácidos que tenemos en la vida.

A mis amigos: M.V.Z.E.P.E. Miguel Rivas F.

M.V.Z.E.P.E. María Elena Martínez

Por su gran apoyo labrado con humildad y sinceridad.

Al personal de la Clínica de pequeñas especies

Por su colaboración para la obtención de las muestras sanguíneas.

Al Laboratorio de Patología Clínica Diagnóstica de la F.M.V.Z. de la U.A.N.L.

Por permitirme la estancia para la realización de las pruebas.

Al M.V.Z.E.G.E. Ruben Cervantes Vega

Por su intervención en la realización de las pruebas estadísticas ocupadas.

A la Sra. Irma García García

Por sus acertadas correcciones ortográficas.

Al personal de post-grado.

Por la utilización de su computadora.

A todas las personas que de una u otra forma ayudaron para la realización de este trabajo.

## 1. INTRODUCCION

La brucelosis en los perros, es una enfermedad infecciosa crónica, causada por Brucella canis, que se caracteriza por producir fallas y trastornos reproductivos en caninos de ambos sexos. La bacteria se aisló por primera vez de criaderos de caninos en los Estados Unidos en el año de 1966 y desde entonces se considera un problema importante, sobre todo para los criadores de razas puras. Su importancia radica en que el tratamiento con antibióticos es costoso y en la mayoría de los casos el animal no responde favorablemente, esto aunado a la permanente difusión de la bacteria al medio ambiente; así mismo, la carencia de bacterinas efectivas para prevenir la infección ocasionan restricción para controlarla.

La incidencia de brucelosis canina se ha determinado en varios países por métodos serológicos y bacteriológicos. La prevalencia de la enfermedad varía acorde a la edad del animal, su procedencia, localización geográfica, fin zootécnico, tipo de residencia, prueba diagnóstica serológica utilizada y su interpretación. De manera general se considera que los perros en zonas urbanas mantenidos en casa tienen una baja incidencia en comparación con perros callejeros y de criaderos de las mismas zonas. La Brucella canis, al igual que las otras especies de Brucella posee la capacidad de infectar al hombre siendo ésta menos agresiva, por otro lado, el interés por conocer el papel de esta afección en la salud del hombre

aumenta, dada la estrecha asociación del humano con el perro.

El conocimiento de la brucelosis canina, sobre todo en criadores de razas puras, se pone en manifiesto cuando se contabilizan las bajas en el número de cachorros por camadas debido a muertes, abortos y nacimientos prematuros entre otros trastornos. La infección por Brucella canis se destaca en animales sexualmente maduros, mismos que no deben ser apareados debido a la patogenicidad de la bacteria. Las pérdidas pueden ser mayores si los animales en cuestión son de alto valor genético.

Se debe tener en cuenta el potencial zoonótico de la bacteria en las personas que manejan perros en criaderos o bien en los laboratorios de diagnóstico o de investigación que tratan con el agente patógeno; sin olvidar la esporádica contaminación de propietarios de perros infectados, esto debido al estrecho contacto del animal con ellos.

De aquí que en el estudio "Prevalencia de Brucella canis en perros clínicamente sanos destinados a cruce en el área metropolitana", plantea la necesidad de conocer la distribución de la infección en la población canina clínicamente sana que es utilizada con fines reproductivos, y analizar si existe alguna relación entre edad, sexo, y tipo de residencia para los animales seropositivos, para establecer

medidas de prevención, control y/o erradicación de esta enfermedad

## 2. REVISION DE LITERARURA

11

La brucelosis es una zoonosis de importancia económica y de salud pública en todo el mundo (1,4,32). La Brucelosis es una enfermedad que afecta a diversas especies animales y se transmite con cierta facilidad entre las mismas.

Se considera que el género Brucella contiene 6 especies; estas son: Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella neotomae, brucella ovis y Brucella canis.

Las primeras cuatro especies se reconocen como formas "lisas" mientras que Brucella ovis y Brucella canis como "rugosas" (4,24,41,48,54).

Las Brucella son "parásitos" obligados que se caracterizan por su localización intracelular, principalmente en el sistema retículo endotelial, son relativamente inactivos, desde el punto de vista metabólico (30). Se definen como el agente causal de enfermedades infecto-contagiosas, que generalmente son de curso crónico y dependiendo de la especie afectada se puede observar fiebre ondulante prolongada, abortos o afecciones localizadas en el tracto reproductor, de los animales sin distinción de sexo (1).

El primer miembro del género (Brucella melitensis), fue aislado en 1887 por David Bruce, a partir del bazo de pacientes que cursaban la enfermedad denominada fiebre de Malta (23). Posteriormente, en 1897, el veterinario Danés, Frederik Bang, aisló un microorganismo similar de fetos de bovino abortados llamándole Brucella abortus (23); después en 1914, otro miembro

del género se identificó como Brucella suis dado que se aisló de fetos de porcino que habían sido abortados y además compartían características similares a las anteriores aisladas (23). En 1966 Carmichael aisló de fetos de perros abortados una bacteria parecida a las demás Brucellas, tal bacteria fue aceptada dentro del género de Brucella con el nombre de Brucella canis (8).

La integración de Brucella ovis al grupo de las especies de Brucella ha sido reciente (23,26,29,36).

La morfología de los microorganismos varían desde cocos hasta bacilos, con predominio de forma cocobacilar que miden 0.2 a 0.4 micras de longitud y 0.4 a 0.8 micras de ancho.

Se trata de bacterias gram negativos, que a menudo se tiñen de forma irregular, son aerobios, no móviles, y no forman esporas. Las Brucellas típicas con algunos subtipos (melitensis, abortus y suis) forman colonias pequeñas, convexas y lisas cuando se cultivan en medios sumamente enriquecidos con aminoácidos, vitaminas, sales y glucosas (4). Las especies de Brucella canis y Brucella ovis desarrollan colonias de forma "rugosa" y mucoides en medios sólido y en medios líquidos se caracterizan por presentarse en un aspecto de cordón (11). La tionina y la fuscina básica se comportan como bacteriostáticos en algunas de las especies de Brucella, siendo ésto una característica importante para la identificación preliminar de las diferentes especies del género y sus respectivos biotipos. (4,11,15)

Otras diferencias entre las especies es la necesidad de CO<sub>2</sub> para el crecimiento y la producción de H<sub>2</sub>S e hidrólisis de urea ; en este aspecto la Brucella canis se caracteriza por la producción de ureasa, además no necesita la presencia de CO<sub>2</sub> para su crecimiento, y no produce H<sub>2</sub>S (3,10,11).

La naturaleza "rugosa" de pared celular de la Brucella canis y Brucella ovis; les confiere a estas, propiedades antigénicas diferentes a las presentadas por las cepas "lisas" (melitensis, abortus y suis); por lo tanto, las técnicas diagnósticas que se utilizan para la detección de animales infectados con Brucellas del tipo "liso" no se pueden aplicar para el diagnóstico de infecciones causadas por cepas rugosas (38); en cambio dada la similitud antigénica entre Brucella canis y Brucella ovis (54), se puede utilizar la Brucella ovis para diagnosticar la infección causada por Brucella canis (8,18,19,24),

Todas las especies de Brucella son sensibles a los ácidos, rayos solares, pasteurización y al calor. En tejidos necróticos tanto de fetos como de placentas son capaces de sobrevivir largo tiempo; mientras que en el medio ambiente y en otras secreciones del organismo la viabilidad puede durar desde quince días hasta dos ó más años, si las condiciones de humedad y temperaturas les son favorables (49).

### 2.1.-Epizootiología.

El rango de hospederos de Brucella canis se limita

principalmente a perros domésticos y canideos salvajes (1,31). Actualmente no se ha reportado seropositividad contra Brucella canis en animales domésticos tales como vacas, cabras, borregos y cerdos (26).

De manera experimental se han inoculado gatos por vía oral, resultando el 75% de éstos con bacteremia. En este mismo estudio gatas gestantes no presentaron abortos y las crías nacieron normales (45). De igual forma se han infectado conejos y monos, presentándose una respuesta similar a lo observado en gatos (26,28,45).

El humano es relativamente resistente a la infección con Brucella canis sin embargo, en Estados Unidos se han reportado treinta y cinco casos (42,48). Un estudio realizado por FLORES et.al en la Cd. de México D.F, en el cual se recolectaron al azar 203 muestras de sueros de personas en el hospital general, revelando un 13.3 % de reactores positivos a Brucella canis, con título de aglutinación superiores a 1:200. Por otra parte, en Florida y Oklahoma se reportó una prevalencia de 59% y 67.8% respectivamente (3,51) .

La contaminación de personas con Brucella canis normalmente es de forma accidental, pues la mayoría son laboratoristas o clínicos que trabajan con la bacteria o bien criadores de perros que están en contacto directo con los animales. No se descarta la posibilidad de que personas, que no tengan relación con las actividades antes mencionadas puedan adquirir la enfermedad por alguna otra vía

desconocida(15,17,31,41,46,53,). EL nacimiento de algún humano infectado aún no ha sido reportado (45).

Estudios serológicos y bacteriológicos revelan que la bacteria está presente en diversos países, tales como Japón, Alemania, Brazil, Checoslovakia, Perú, Madagascar, Estados Unidos de Norteamérica y México (1,2,15,17,). En este último país particularmente en el D.F., se reportó una prevalencia del 28 % de caninos seropositivos (38,51). En un estudio serológico y bacteriológico realizado en Monterrey Nuevo León resultó un 18.32 % de sueros aglutinantes a Brucella canis y 3.3% positivos al hemocultivo (3).

## 2.2.- Transmisión.

La vía de entrada más común de la infección es por la ingestión y/o inhalación de la bacteria proveniente de material abortado y de secreciones vaginales, esto es debido a su alta concentración de la bacteria en estos sitios, la cual puede llegar hasta  $10^{10}$  organismos/ml (9,26,29,31,46).

Otra forma importante de transmisión es por medio del semen del macho infectado la cual ocurre con mayor énfasis entre la tercera y onceava semana post-infección; siendo difícil el aislamiento en la 60 semanas post-infección (31). En orina de perros , en etapas tempranas de la infección, se puede llegar ha obtener hasta  $10^6$  bacterias por ml de orina; en cambio en las perras que se encuentran en las mismas etapas de infección el microorganismo se recupera escasamente (31,45).

La eliminación de la bacteria puede presentarse en saliva,

secreciones nasales y leche (9). No obstante, para que un canino se logre infectar por vía oral necesita el suministro de  $10^6$  organismos, mientras que por vía conjuntival requiere de la administración de entre  $10^4$  ó  $10^5$  organismos (9,16,31).

### 2.3.- Patogénesis

Las bacterias que penetran en el organismo son fagocitadas por leucocitos y transportadas a los ganglios linfáticos regionales, en este sitio las bacterias se replican, ocasionando linfadenitis; tiempo después, las bacterias penetran en la circulación sanguínea, donde permanecen por períodos prolongados y favoreciendo la multiplicación en células del tejido retículo endotelial, hígado, bazo y ganglios linfáticos produciendo hiperplasia celular y granuloma en estos lugares ; otros tejidos en los cuales la bacteria se multiplica incluye la placenta, epidídimo y próstata (9).

Al ser ingeridas por células fagocitarias y transportadas a ganglios linfáticos las bacterias logran un mayor contacto con las células del sistema inmunológico, propiciando el desarrollo de una respuesta tanto humoral como celular. La primera se manifiesta durante los siguientes 4 a 7 días de ocurrida la infección con la aparición de anticuerpos circulantes, adquiriendo éstos su máximo nivel entre los quince a veinte días posteriores a la infección y persistiendo por largos períodos dependiendo de la duración de la infección. La

respuesta celular se hace aparente en algunos animales al producir un notorio aumento de volumen en los ganglios linfáticos submaxilares, inguinales y otros que pueden ser palpados durante el examen clínico. Por último, la reacción celular propicia el desarrollo de un proceso autoinmune que da como resultado la aparición de epididimitis y escrotitis entre otros (9,26,).

#### 2.4.- Lesiones y Signos Clínicos

En cánidos las lesiones y/o trastornos causados por Brucella canis se circunscriben al sistema retículo endotelial y tracto reproductor en ambos sexos (8,40). La Brucelosis canina es una enfermedad sistémica que produce una prolongada bacteremia sin fiebre o bien con fiebre ondulante (12). La bacteremia puede persistir durante dos años ó más, en este período puede presentarse linfadenopatía.

En hembras los disturbios comunes son abortos espontáneos que ocurren durante los 30 y 57 días de gestación, presentándose un mayor índice de abortos a los 45 y 55 días (10,39,53). Otras observaciones incluyen fallas en la fertilidad después de una o más montas ocasionadas por la muerte embrionaria a los diez o veinte días después de la concepción. En algunos casos es común que la gestación llegue a término después de abortos y/o muertes embrionarias consecutivas, sin embargo, en estas gestaciones los cachorros nacen muertos o débiles durando pocos días y logrando

en ocasiones sobrevivir. Las descargas vaginales posteriores al aborto o parto duran varios días, presentando la característica de color y consistencia semejante a la brea (8,14,26).

La presentación de abortos ocurre a cualquier edad de la hembra afectada no obstante, se observa una mayor frecuencia entre los 2 a 4 años de edad (8).

Por otro lado, la brucelosis no altera el ciclo estrual de la perra (6,26).

En machos los signos frecuentemente observados incluyen linfadenitis, epididimitis, dermatitis, edema escrotal y eventualmente atrofia testicular uni o bilateral, fatiga y descendencia en su líbido (43). La dermatitis escrotal es ocasionada principalmente por Staphylococcus spp. que invaden el escroto humedecido por el constante lamido del perro, al tratar de mitigar el intenso dolor al haber epididimitis (8,9,13,46). Entre las dos y cinco semanas posteriores a la infección, la función del esperma es afectado en un 30% al 80%. Entre las anomalías de las células espermáticas frecuentemente observadas son colas encorvadas, cabezas espermáticas carentes de colas y gotas protoplasmáticas distales. Alrededor de las veinte semanas de la infección por vía oral más del 90% del esperma puede estar anormal, con una severa reducción en la motilidad, apareciendo neutrófilos y monocitos en el eyaculado; siendo frecuente la aglutinación de espermatozoides cabeza con cabeza (2,20,21,22).

Otros signos no reproductivos asociados con Brucella canis

que se presentan en ambos sexos son esplenomegalia, discospondilitis , meningoencefalitis, anisocoria, ataxia, hiperestesia, cefalalgias edema corneal con uveitis (25,26,34,35,46). Las lesiones comunes en fetos abortados son bronconeumonías, miocarditis, hemorragia renal focal generalizada con linfocitos e infiltración de células reticulares en el intersticio, linfadenitis y hepatitis entre otros (9).

En el hombre los signos clínicos causados por Brucella canis no son tan severos como los producidos por otras especies del género de Brucella (33). Los más comunes que se presentan son: Fiebre que oscila entre 39.5 y 40°C, escalofríos, dolor de cabeza, dolor epitroclear , dolor axilar, linfadenitis cervical posterior, dolores musculares, sudoración y esplenomegalia, entre otros (41,42,46,48,50).

#### 2.5.- Diagnóstico.

Para el diagnóstico de brucelosis canina es necesario basarse en pruebas serológicas y bacteriológicas, sin descartar la historia clínica del animal ni sus signos clínicos (18,33). No obstante, el aislamiento de la bacteria permanece como el diagnóstico definitivo (1,15), aunque tiene el inconveniente de ser muy tedioso y tardado, razón por la cual las pruebas serológicas sean más utilizadas .

La función de las pruebas serológicas consiste en detectar

anticuerpos contra antígenos, en este caso en particular, de Brucella canis (18). Los anticuerpos pueden ser detectados de la octava a la doceava semana post-infección (31). Los niveles de anticuerpos se presentarán elevados (1:400 o 1:320), de acuerdo con la persistencia de la bacteremia o bajos (1|50 a 1|200) cuando la bacteremia es intermitente; cuando se detecta esta última condición el resultado se considera negativo a Brucella canis; sin embargo, la bacteria está presente en tejidos (45,46).

En la pared celular de la Brucella canis se encuentran la mayoría de los antígenos contra los cuales se dirigen los anticuerpos del animal infectado (18), pero desafortunadamente estos tienen similitud antigénica con la pared de otros organismos como Brucella ovis, Brucella abortus, Brucella suis, Pseudomona aeruginosa (cepas mucoides), Bordetella bronchiséptica, Actinobacillus equuli y ciertas especies de Staphylococcus, entre otros; provocando con ello reacciones cruzadas que originan resultados falsos positivos (7,31,47).

En la actualidad existen varias pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra de Brucella canis, sin embargo, las más utilizadas son las pruebas rápida de aglutinación en placa (SAT), la prueba de aglutinación en tubo (TAT), el ensayo de inmunodifusión en agar gel (AGID) y el ensayo inmuno enzimático ligado a enzima (ELISA) (4,18,19,38,47). Dada la amplia variedad de procedimientos de cada una de las pruebas antes mencionadas, la sensibilidad y

especificidad varían con lo que sus ventajas y desventajas también presentan un cierto grado de variación relacionado con las características patogénicas de la infección.

La prueba SAT es rápida en su interpretación, observándose su máxima aglutinación a los 5 minutos (18). Esta prueba es capaz de detectar anticuerpos de tres a cuatro semanas después de iniciada la infección (31), además de ser altamente sensible y de fácil realización a nivel de campo; no obstante, es factible que esta prueba de resultados falsos positivos; sin embargo, esto se puede reducir modificando la prueba, mediante la adición de 2 Mercaptoetanol (MET), el cual destruye las proteínas no específicas y rompe los enlaces de las cadenas pesadas de los anticuerpos IgM, dado que estas inmunoglobulinas son no muy específicas para seroaglutinar la Brucella canis (14,15,31).

La prueba TAT tiene una gran similitud a la de SAT, en cuanto a sus ventajas y desventajas y también es susceptible a ser modificada con MET (4).

La prueba AGID es muy específica, además en comparación con las anteriores, presenta un reducido número de falsos positivos; el inconveniente de ésta radica en que detecta los anticuerpos después de la doceava semana post-infección y además el proceso de la técnica puede resultar complejo cuando no se tiene experiencia, equipo y reactivos adecuados. El uso de antígenos citoplásmicos, en esta prueba aumenta la especificidad de ésta en animales abacterémicos infectados

crónicamente , sin embargo, la especificidad disminuye al presentar homología cruzada con antígenos internos de ciertos grupos bacterianos (3).

Por otra parte, la prueba de ELISA, al igual que la prueba de AGID, es altamente específica si se utilizan antígenos bacterianos adecuados al procedimiento, sin embargo, para su realización requiere equipo, reactivos y personal capacitado (4); estas dos últimas pruebas se pueden utilizar para confirmar los resultados positivos por MET-SAT y MET-TAT (31).

### 3. MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron 74 muestras sanguíneas de perros a partir de Marzo de 1991 hasta agosto de 1992, en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.A.N.L.. En todas ellas se incluyeron los datos de lugar de residencia (dentro o fuera de casa), edad, y sexo; todos los perros pertenecían a personas de un estatus social medio alto, los cuales tienen la capacidad de llevar a cabo un calendario preventivo de enfermedades mediante vacunación, desparasitación y un régimen alimenticio adecuado. Los ejemplares fueron remitidos a la clínica para confirmar el diagnóstico de celos o bien para realizar un examen clínico rutinario antes de ser apareados. De tal forma que en el estudio solamente se incluyeron aquellos animales que se presentaron clínicamente sanos a las anteriores rutinas.

La sangre se obtuvo a partir de la vena radial, bajo previa depilación y desinfección (alcohol al 70 %) del área en donde se hizo la punción con aguja (#21) y tubo vacutainer. Se recopilaron 5 ml. de sangre, a la cual se le permitió la coagulación a temperatura ambiente, posterior a esto la muestra se centrifugó de 2500 a 3000 rpm, durante 10 minutos; el suero se extrajo con pipetas pasteur limpias, y se depositó en frascos limpios y estériles, almacenándose a -20.C; una vez realizado lo anterior se procedió a realizar la prueba rápida de aglutinación en placa (SAT) a todas las muestras, empleando como antígeno bacterias muertas sin teñir de Brucella ovis y

antisueros controles positivos y negativos y antisueros controles positivos.

El procedimiento de la prueba se efectuó de acuerdo a lo recomendado por ALTON y colaboradores (4) , los cuales proceden de la manera siguiente: se depositan en forma separada cuarenta, veinte, diez y cinco microlitros de suero en una placa de vidrio cuadrículada, a los que se agregan cincuenta microlitros de antígeno a cada una de las muestras, mismas que se mezclan con un palillo de madera comenzando desde la menor dilución.

La formación de aglutinación se observó después de dos minutos de incubación a temperatura ambiente en una cámara húmeda; los resultados se registraron como:

- a) Positivos, cuando la aglutinación completa ocurriera en el suero con veinte o menos microlitros;
- b) Sospechosos, cuando la aglutinación ocurriera en los cuarenta microlitros y parcial a los veinte microlitros.
- c) Negativos, cuando no ocurra aglutinación en ninguna de las diluciones (4,16).

Los sueros positivos y sospechosos se sometieron a la prueba modificada de SAT con 2-mercaptoetanol (MET-SAT ); para lo cual se procedió de la siguiente forma: A cien microlitros de cada uno de los sueros problema se les adicionó cien microlitros de 2-Mercaptoetanol al 0.2 molar, estos se mezclaron vigorosamente por dos a tres segundos en un tubo ependoff , e inmediatamente se confrontaron cincuenta

microlitros de esta mezcla con un volumen igual de antígeno en la placa de vidrio; efectuándose la lectura a los 2 minutos, bajo las mismas condiciones que en SAT. Si la aglutinación ocurre el suero se considera positivo (4).

Se utilizó el paquete estadístico de la Facultad de Agronomía de la U.A.N.L. de Emilio Olivares (1987) para correlacionar las variables de los resultados obtenidos

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1.- Comparación de las pruebas de seroaglutinación. (SAT y ME-SAT).

El porcentaje de seropositividad fue mayor en la prueba de SAT, con un 17.3% en comparación con ME-SAT donde se observó el 11.9% del total de las muestras (92 muestras).

La tabla I muestra los resultados de las dos pruebas serológicas empleadas en este estudio para detectar anticuerpos en el suero de los perros.

Tabla I

COMPARACIÓN DE LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACIÓN DE SAT Y ME-SAT PARA DETECTAR ANTICUERPOS CONTRA Brucella canis EN PERROS SOLICITADOS PARA CRUZA DEL ÁREA METROPOLITANA

Resultado* a la aglutinación	SAT		ME-SAT	
	No.de muestras	%	No.de muestras	%
+	16	17.39	11	11.9
(-)	76	82.6	81	88.0
Total	92	100	92	100

\* Se tomaban como positivos aquellos sueros que reaccionaban a los 2 minutos de realizada la mezcla Antígeno (Ag)-Anticuerpo (Ac) con formación de aglutinación franca.

SAT Prueba rápida de aglutinación en placa

ME-SAT Prueba rápida de aglutinación en placa modificada con 2 Mercaptoetanol

+ Positivas a la aglutinación

- Negativas a la aglutinación

% Porcentaje correspondiente a la cantidad numérica adjunta

Nota: Las muestras se probaron dos veces

4.2.- Resultados serológicos contra Brucella canis de acuerdo al sexo del animal.

Los porcentajes de seropositividad observados como resultados de las pruebas realizadas en machos y hembras son similares, presentándose un 18.5% y 16.9% respectivamente, para la prueba de SAT , así como un 14.8% y 10.7% en ME-SAT. Los resultados del análisis estadístico de la prueba de Ji-cuadrada revela que no existe diferencia significativa ( $P > 0.05$ ).

La comparación entre los animales seropositivos de acuerdo al sexo se expresa en la tabla II, en la cual también se observan las diferencias entre las dos pruebas serológicas empleadas.

Tabla II

RESULTADO SEROLOGICO CONTRA Brucellas canis EN PERROS DEL AREA METROPOLITANA UTILIZANDO SAT Y ME-SAT.  
DE ACUERDO AL SEXO

SEXO	No.de muestras	%	SAT (+)		ME-SAT (+)	
			No. de muestras	%	No. de muestras	%
MACHOS	27	29.3	5	18.5	4	14.8
HEMBRAS	65	70.6	11	16.9	7	10.7
TOTAL	92	100	16	17.4	11	11.9

SAT Prueba rápida de aglutinación en placa positivas a la aglutinación

ME-SAT Prueba rápida de aglutinación en placa modificada con 2 Mercaptoetanol positiva a las seroaglutinación

Porcentaje de positivos del número de muestras para ambos sexos

#### 4.3.- Comparación de la edad y la seropositividad hacia Brucella canis.

El número de perros positivos a SAT y MET-SAT con edades de cuatro años y mayores fue el mismo (2 animales). Sin embargo, el porcentaje de seropositivos es mayor en la prueba de MET-SAT (18.1 % ) que en SAT (12.5%), dado que la cantidad total de sueros positivos a ME-SAT fueron (11 animales).

El mayor número de animales positivos (tanto en cantidad como en porcentaje) se encuentran en la edad de 2 a 3 años para ambas pruebas, con 43.7 % y 45.4 % para SAT y ME-SAT respectivamente.

La relación de la edad con la reactividad serológica positiva en contra de Brucella canis se aprecia en la tabla III, en la cual solamente se anotan las muestras positivas.

Tabla III

RELACION DE LA EDAD CON LA REACTIVIDAD SEROLOGICA CONTRA Brucella canis, EN CANINOS POSITIVOS A SAT O ME-SAT.

EDAD	(AÑOS)	SAT		ME-SAT	
		#	%	#	%
1	a 2	4	(25)	2	(18.1)
2	a 3	7	(43.7)	5	(45.4)
3	a 4	3	(18.8)	2	(18.1)
4	ó más	2	(12.5)	2	(18.1)
TOTAL		16	(100)	11	(100)

SAT Prueba rápida de aglutinación en placa

ME-SAT Prueba rápida de aglutinación en placa modificada con dos Mercaptoetanol

# Cantidad numérica de perros seropositivos

% Porcentaje del total de seropositivos para ambas pruebas

4.4.- Resultados de la seroaglutinación hacia Brucella canis según la residencia del animal.

De las muestras obtenidas el 95.6 % (88 muestras) procedían de perros que permanecían dentro y el resto 4.3 % (4 muestras) fuera; ahora bien, el mayor índice de seropositivos en ambas pruebas se presentó en muestras de perros que permanecían fuera de casa, con 50 % del total de perros que fueron sometidos a SAT y 25 % con la prueba de ME-SAT .

Los resultados de la seroprevalencia de la Brucella canis en los caninos sometidos a la prueba de SAT Y ME-SAT, de acuerdo al lugar de estancia se aprecian en la tabla IV.

Tabla IV

COMPARACIÓN DE LA SEROAGLUTINACIÓN HACIA Brucella canis CON SAT Y MET-SAT EN CANINOS QUE HABITAN FUERA O DENTRO DE CASA.

LOCALIZACION			SAT		ME-SAT	
	#	%	#	%	#	%
DENTRO	88	95.6	14	15.9	10	11.3
FUERA	4	4.3	2	50.0	1	25.0
TOTAL	92	100	16	17.39	11	11.9

Se consideran "dentro" cuando el perro comparte habitación con humanos, así también al estar en el patio.

Se consideran "fuera" cuando el animal está en permanente contacto con la calle.

% Los porcentajes se realizan tomando en cuenta el número numérico total de cada columna.

SAT Prueba rápida de aglutinación en placa seropositivas a la aglutinación.

ME-SAT Prueba rápida de aglutinación en placa modificada con dos Mercaptoetanol positivas a la aglutinación.

# Cantidad numérica de perros.

Se incluyen solamente las muestras positivas.

## 5.- DISCUSION.

Desde el descubrimiento de Brucella canis como causa de aborto en ciertos centros de crías caninas, en algunos países, numerosas publicaciones se han referido a la epizootiología de esta enfermedad (1,2,15,17). En el presente estudio se buscó anticuerpos contra Brucella canis en perros clínicamente sanos al momento de la obtención de la muestras sanguíneas, ya que los reportes de la enfermedad, en relación con el estado de salud del animal son escasos (2,33 ).

Las dos pruebas serológicas utilizadas para detectar reactores positivos se han empleado en trabajos previos, inclusive se reporta 100 % de sensibilidad y 95.7 % de especificidad al utilizar SAT (33,52); sin embargo, dicha prueba puede presentar resultados falsos positivos (7,31,47), por lo que se recomienda el empleo de Mercaptoetanol a fin de eliminar tales reacciones falsas (14,31). Por esta razón el número de positivos a SAT (16 sueros) fué superior a ME-SAT (11 sueros), resultados que concuerdan con WOOLEY et.al.(53).

La seroprevalencia general (11.9 %) determinada por ME-SAT resultó ser más baja a lo reportado en la ciudad de México por Flores (28 % ) (3,15) y a lo publicado por Alonso en 1984 (18.3%) en el área metropolitana de Monterrey, N.L.(3). El parámetro encontrado en el actual estudio puede ser de valor para las personas dedicadas a la crianza y zootecnia canina, ya que los resultados obtenidos con ME-SAT revelan la presentación de perros seropositivos al momento de la cruce. Además, esta

prueba detecta los anticuerpos producidos a partir de un mes del inicio de la infección (3), período en el cual existe una mayor probabilidad de contagio o expulsión de la bacteria por semen (3 a 11 semanas post-infección ) (22,26,31).

La distribución serológica contra Brucella canis según el sexo del animal (ver tabla II) no presentó diferencia estadística significativa; de esta forma al parecer no existe predilección de la bacteria para infectar a determinado sexo. Tal observación concuerda a lo reportado por MOORE y colaboradores (39), sin embargo, está en desacuerdo a lo mencionado por SUAREZ y FLORES (49).

Considerando los resultados que se muestran en la tabla III, el mayor porcentaje de seropositividad se ubicó en la edad de 2 a 3 años utilizando ambas pruebas; dicho evento pudiese estar relacionado con el contagio reciente de la bacteria y con el inicio del incremento de la actividad sexual del animal, ya que se ha encontrado alto índice de seropositividad en perros que comienzan su vida sexualmente reproductiva (8,10). Así mismo los parámetros de los resultados positivos utilizando ME-SAT son iguales en las edades de 1 a 2, 3 a 4 y 4 ó más años; tal observación puede relacionarse con la presencia de bajos títulos de anticuerpos o fallas de la técnica para detectarlos en animales sexualmente inactivos o maduros con infecciones en etapas terminales o secuestradas en ciertos sitios (39,40,45).

El alto porcentaje de positivos (25 % , ME-SAT) en los

perros ubicados fuera de la casa, tal vez refleja el comportamiento social de estos. De tal forma que el constante contacto con perros sin dueño aumenta la probabilidad de adquirir la infección; esta observación concuerda con estudios anteriores, los cuales detectan altos índices de seropositividad en perros callejeros (3,15,51,53). No obstante se recomienda aumentar el tamaño de la muestra para determinar si tal observación puede ser válida.

## 6.- CONCLUSIONES.

A) De acuerdo a los resultados obtenidos existen caninos seropositivos a Brucella canis, clínicamente sanos y en condiciones de vida favorables que se destinan a la reproducción.

B) Se obtuvieron diferencias en los porcentajes de seropositividad en los resultados entre las pruebas de SAT y ME-SAT, no obstante éstos no son significativos ( $P > 0.05$ ).

C) No existe diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre los sueros positivos tanto de hembras como de machos, hacia la brucelosis canina.

D) La positividad se manifestó con mayor énfasis en el grupo de perros que tenían de 2 a 3 años de edad, sin embargo, no hay diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre perros jóvenes y viejos.

E) El número de animales positivos es mayor en perros mantenidos en la calle respecto a los que se encuentran dentro de la casa (patio), dado que existe una relación significativa ( $P < 0.01$ ) entre la seropositividad y la estancia del animal.

## 7. RESUMEN

El presente trabajo se realizó, por un lado, con el objeto de determinar mediante las pruebas de aglutinación rápida en placa (SAT) y modificada con mercaptoetanol (ME-SAT) la seroprevalencia de Brucella canis en perros clínicamente sanos destinados a cruce dentro del área metropolitana de Monterrey N.L. y por otro, analizar si existe relación entre edad, sexo y tipo de residencia con los animales seropositivos.

Se recolectaron 92 sueros, los cuales se sometieron a la prueba de SAT;obteniéndose un 17.39 % (16 muestras) de sueros positivos. Estos mismos reactores se procesaron en la prueba de ME-SAT resultando solamente un 11.9 % (11 muestras) de seropositividad general.

Los resultados de la comparación de ambas pruebas para detectar Brucella canis en caninos que habitan dentro o fuera de casa , demostraron una relación significativa al utilizar el método de Ji-cuadrada ( $P < 0.01$ ); la distribución de seropositivos de acuerdo a la edad del animal no presentó alguna relación significativa ( $P > 0.05$ ), no obstante, la mayor concentración de seropositivos se ubicó en el grupo de 2 a 3 años. Por otra parte, de acuerdo al sexo el porcentaje de positivos y negativos, fue similar, no detectándose predilección de la infección por uno u otro sexo ( $P > 0.05$ ).

## 8. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acha, P.N. and B. Szyfress, 1986: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2a. ed, Publicación Científica Washington D.C.: 15-35.
- 2.- Alanis, L.J. 1988: Fundamentos de urología en perros y gatos 1a. ed, Universidad Autónoma de México:140-147.
- 3.- Alonso, L.E., 1989: Presencia de Brucellosis canina en la ciudad de Monterrey y su área Metropolitana. Tesis de Licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N.L, Monterrey, N.L.
- 4.- Alton, G.G., 1988: Techniques for Brucellosis Laboratory. 1a ed. INRA, U.S.A.: 169-174
- 5.- Baba, E., H. Hata, T. Fukata and A. Arakawa. 1983: Vaginal and Uterine microflora of adult dog. Am. J. Vet.Res., 44: 606-609
- 6.- Binnington, A.G. y J. R. Cockshutt. 1991: Tomas de decisiones en Cirugía de tejidos blandos en pequeños animales. 1a ed. Interamericana México, D.F.: 120-121
- 7.- Bowser, D.V. J.W. Foster y M.D. Cooper. 1975: Serologic

studies of *Brucella suis* and *Brucella canis*. Am.J.Vet.Res.,  
36:303-308

- 8.- Carmichael, L.E. y R. M. Kenney., 1968: Canine abortion caused by *Brucella canis*. J.A. V.M.A. 152:605-616
- 9.- Carmichael, L.E. y R.M. Kenney., 1970: Canine Brucellosis: The clinical disease, Pathogenesis and immune response. J.A.V.M.A.156 :1726-1734
- 10.- Cottral, G.E. 1986: Microbiología Veterinaria. 1a ed. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F.: 344-351
- 11.- Cowan, S.T. y K.J. Steel., 1979 Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 12a ed. Compañía Editorial Continental, México, D.F.:128-130
- 12.- Currier, R.W., W.F. Raithel, R.J. Martin y M.E. Potter., 1982 Canine Brucellosis. J.A.V.M.A. 180: 132-133
- 13.- Dawkins, G.B., S.V. Machotka y D. Suchmann., 1982 Pyogranulomatousdermatitis Associated with *Brucella canis* Infection in a dog. J.A.V.M.A. 181:1432-1433
- 14.- Ettinger, 1985: Texbook of Veterinary International Medicine 2a ed., 2: 1715-1716

- 15.- Flores, R., F. Suarez, R. Ramírez y L.E. Carmichael. 1977: Canine Brucellosis: Bacteriological and Serological Investigation of Naturally Infected Dogs in Mexico City. Journal of Clinical Microbiology. 6: 591-597
- 16.- Flores, R. y L.E. Carmichael., 1978: Canine Brucellosis. Cornell Vet., 68: 76-88
- 17.- Fredrickson, L.E. y C.E. Barton., 1974: A Serologic survey for canine Brucellosis in a Metropolitan area. J.A.V.M.A. 165:987-988
- 18.- George, L.W. y L.E. Carmichael., 1974: A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine Brucellosis. Am. J.Vet. Res. 35: 905-909.
- 19.- George, L.W. y L.E. Carmichael., 1978: Development of a crose bengal stained plate-test antigen for a rapid diagnosis of Brucella canis Infection. Cornell Vet. 68: 530-543 .
- 20.- George, L.W. y L.E. Carmichael., 1979: Canine Brucellosis. Am.J.Vet. Res. 40:1589
- 21.- George, L.W. y L.E. Carmichael., 1984: Antiesperma responses in male dogs with chronic Brucella canis

- infection. Am. J.Vet. Res. 45: 274-281
- 22.- George, L.W., J.R. Ducan. y L.E. Carmichael., 1979: Semen examination in dog with canine Brucellosis. Am. J. Vet. Res. 40:1589-1595
- 23.- Gillesper, J.H. y J.F. Timoney., 1983: Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 4a ed. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F.: 106-129
- 24.- Godoy, A.M., J.N. Peres, L. Barg. 1978: Antigeno para metodo rápido na pesquisa de aglutininas para Brucella .Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., 30: 165-169.
- 25.- Gordon, J.C. y H.C. Rutgers., 1985: Canine Brucellosis in a household. J.A.V.M.A. 186: 695-698.
- 26.- Greene, C.E. and L.W. George., 1984: Clinical microbiology and infectious disease of the dog and cat 1a ed. U.S.A.: 646-661
- 27.- Harrington, R. y G.M. Brown. 1976: Laboratory summary of Brucella isolations and typing. Am. J. Vet. Res. 40: 1589
- 28.- Heredia, J.M. 1989: Enfermedades infecciosas de los gatos. 1a ed. Esfera Editores México, D.F.: 139
- 29.- Intrabartolo, C. 1985:Canine Brucellosis. Veterinary technical: 193-194

- 30.- Jawetz, E., J.L. Melnick y E.A. Adelberg. 1987: Microbiología Médica. 12a ed. El Manual Moderno, México, D.F.: 271-273
- 31.- Johnson, C.A. y R.D. Walker. 1992: Clinical signs and diagnosis of Brucella canis Infection. The compendium, small animal. 14: 763-773
- 32.- Jones, R.L. 1984: Canine Brucellosis in a commercial breeding kennel. J.A.V.M.A., 184: 834-835
- 33.- Kahrs, R.F., D.N. Holmes y G.C. Poppensiek. 1978: Diseases transmitted from pets to man: An evolving concern for veterinarians. Cornell Vet. 68: 442-459
- 34.- Kornegay, J.N. 1986 : Diskospondylitis. Current veterinary therapy, small animal practice Kirk. 9 ed. W.B. Saunders Company U.S.A.: 810-814
- 35.- Merck. 1982: El manual merck de veterinaria 2a ed. Merck y Co. Inc.: 481-482
- 36.- Meyer, M.E. 1969: Brucella organisms isolated from dog comparison of characteristics of members of the genus Brucella Am. J. Vet. Res. 30: 1751-1756.
- 37.- Meyer, M.E. 1969: Phenotypic comparison of Brucella ovis to the DNA - Homologous Brucella species. Am.J.Vet.Res. 30: 1756-1764

- 38.- Moguel, P.A. 1985 : Utilización de las pruebas contrainmunolectroforesis, fijación de complemento, de aglutinación rápida en placa, de aglutinación lenta en tubo y del factor inhibidor de la migración de los macrófagos, para detectar anticuerpos o células sensibilizadas contra Brucella canis en un grupo de perros sin dueño en el D.F. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de U.A.M México, D.F.
- 39.- Moore, J.A., B.N. Gupta y G.H. Conner. 1968: Eradication of Brucella canis infection from a dog colony. J.A.V.M.A. 153: 523-527
- 40.- Moore, J.A., y T.J. Kakuk 1969: Male dog naturally infected with Brucella canis. J.A.V.M.A. 155: 1352-1358
- 41.- Morisset, R. y W.W. Spink. 1969: Epidemic canine Brucellosis due to a new species, Brucella canis. The Lancet: 1000-1002
- 42.- Munford, R.S., R.E. Weaver, C. Patton, J.C. Feeley y R.A. Feldman. 1975: Human disease caused by Brucella canis J.A.V.M.A. 231: 1267-1269
- 43.- Padilla, J., M.C. Isidro y S. Lara. 1987: Apuntes de medicina: Enfermedades de los perros y gatos. 1a ed. Gráfica J.I. Caballero México, D.F.: 317

- 44.- Petterson, J.M., B.L. Deyoe y S.S. Stone. 1976: Identification of immunoglobulins associated with complement fixation, agglutination and low PH buffered antigen test for Brucellosis. Am.J.Vet.Res.37: 319-324
- 45.- Pickerill, P.A. y L.E. Carmichael 1972: Canine Brucellosis: Control program in comercial kennels and effect on reproduction J.A.V.M.A. 160: 1607-1614
- 46.- Schoeb, T.R. y R. Morton., 1978: Scrotal and testicular changes in canine Brucellosis a case report. J.A.V.M.A. 155: 2091-2093
- 47.- Serikawa, T., S. Iwaki, M. Mori, T. Muraguchi y J. Yamada., 1989: Purification of Brucella canis cell wall antigen by using immunosorbent columns and use of the antigen in enzyme-linked immunosordentassay for specific diagnosis of canine Brucellois. j. clin. Microbiol. 27: 837-842
- 48.- Spink, W.W. 1969: Present status of Brucellosis in man and clinical and diagnostic problems J.A.V.M.A. 155: 2091-2093
- 49.- Suarez, F. y R. Flores. 1978: Brucellosis en diferentes especies animales: Memorias del foro nacional sobre Brucellosis. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias-SARH :40-41.
- 50.- Swenson, R.M., L.E. Carmichael y K.R. Cundy. 1972: Human

- infection with Brucella canis., Annals of Internal Medicine. 76: 435-438
- 51.- Wooley, R.E., J. Brown, E.B. Shotts y J.L. Blue. 1977: Serosurvey of Brucella canis antibodies in urban and rural stary dogs in Georgia. Veterinary Medicin/Small Animal Clinical: 1581-1584
- 52.- Wooley, R.E., L. Hitchcock., J.L. Blue., M.A. Neuman, J. Brown and E. Bshotts. 1978: Isolation of Brucella canis from a dog seronegative for Brucellosis. J.A.V.M.A. 173: 387-388
- 53.- Zoha, S.J. y R. Walsh., 1982: Effect of a two stage antibiotic regimen on dogs naturally infected with Brucella canis J.A.V.M.A. 180: 1474-1475
- 54.- Zoha, S.J. y L.E.Carmichael.,1982: Properties of cell wall antigenes of virulent Brucella canis pathogenicity.Am. J. Res. 43: 171-174

