

DIAGNÓSTICO DE *BRUCELLA CANIS* EN PERROS DE CRIADEROS DE MEDELLÍN Y DEL ORIENTE ANTIOQUEÑO EN EL AÑO 2010, SOMETIDOS A PRUEBA DE AGLUTINACIÓN RÁPIDA EN EL LABORATORIO SYNGAMIA DE LA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Vanessa Castrillón Zuluaga
Daniela Arbeláez Ortiz
Estefanía Londoño Osorio
Juan Manuel Roldán Ospina
Miguel Ángel Gutiérrez

Universidad De Antioquia
Facultad De Ciencias Agrarias
Escuela De Medicina Veterinaria
Medellín – 2012

RESUMEN

La brucelosis canina es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria *Brucella canis*, es la afección reproductiva más relevante en caninos causando infertilidad en machos y abortos en hembras, además es de carácter zoonótico. En Colombia se conoce muy poco acerca de la frecuencia de presentación de la enfermedad y no existen leyes sanitarias que la regulen. A partir de los resultados obtenidos en caninos sometidos a la prueba de aglutinación rápida en el laboratorio singamia de la universidad de Antioquia se halló una frecuencia de presentación del 19% de seropositividad en una población canina de 381 individuos procedentes de criaderos del área urbana de la ciudad de Medellín y área rural del oriente Antioqueño durante el año 2010.

Palabras clave: brucelosis canina, zoonosis, criaderos de perro, seroprevalencia, *Brucella canis*.

INTRODUCCIÓN

Aunque los caninos pueden infectarse por cuatro especies distintas del genero brucella (canis, abortus, melitensis y suis) la sintomatología clínica en éstos, está asociada principalmente con b. canis, desde su aislamiento en el año 1967. La B. canis se comporta epidemiológicamente como la enfermedad reproductiva más importante de esta especie (En Medellín se diagnosticó por primera vez en 2005 en un criadero, hallando posteriormente una frecuencia de presentación del 11% a una población de 1500 perros). La *Brucella canis* es un pequeño cocobacilo gramnegativo que forma colonias rugosas finalmente granulares en cultivo. No requiere

mantenimiento de CO₂ y se han hallado diversos biotipos con ligeras diferencias. 2; 3

La sintomatología en los caninos afecta principalmente el sistema reproductivo e incluye pérdida embrionaria, aborto, orquitis, epididimitis, atrofia testicular e infertilidad. También hay otros síntomas como periodos febriles, linfadenitis, discoespondilitis y uveítis anterior. El medio de infección se puede dar a través de contacto sexual, contacto oronasal e ingestión de tejidos y fluidos, principalmente placenta y líquidos placentarios contaminados que las hembras pueden eliminar durante una a seis semanas luego del aborto, también por la leche secretada por la perra e incluso en la eliminación de orina de perros infectados que puede iniciar a proliferarse cuando el perro lleva entre una y tres semanas de iniciada la bacteriemia, pudiendo durar hasta más de un año. 1; 2; 3; 6

Al igual que en el caso de brucelosis en otras especies de animales, las manifestaciones clínicas de la brucelosis canina también son variables, por lo que el diagnóstico no puede efectuarse únicamente con base en los signos clínicos. Esta enfermedad debe ser considerada en el diagnóstico siempre que exista historia clínica de aborto o deficiencias reproductivas en animales de cualquier sexo. Inflamación del epidídimo, atrofia testicular y semen de calidad pobre son signos altamente sugestivos de infección por *B. canis*. 1; 4; 6

El aislamiento de la bacteria a partir de sangre, descargas vaginales,

leche, o bien en el caso de abortos a partir de placenta y tejidos de los fetos abortados, es el único método en el que el diagnóstico es definitivo. Dado que la bacteriemia persiste durante periodos considerablemente largos, es recomendable realizar hemocultivos en todos los casos en que se sospecha enfermedad, sin olvidar que esta puede existir en forma intermitente y que en casos crónicos la enfermedad puede encontrarse localizada en uno o dos tejidos. Un resultado de hemocultivos negativos no debe ser considerado como definitivo. Por lo general los animales infectados poseen altos niveles de anticuerpos circulantes que persisten por varios meses después de que la bacteriemia ha cesado. 4

Dado que la *B. canis* en algunos determinantes antigénicos de la pared celular, difiere de las cepas lisas de otras brucelas, los antígenos y las técnicas estándar que se usan para el diagnóstico de brucelosis en otras especies, no pueden emplearse en el caso de infecciones por *Brucella canis*. En la actualidad se han descrito varios métodos para el diagnóstico serológico de esta enfermedad; sin embargo, los resultados que con ellos se obtienen deben interpretarse con suma precaución. 1; 4

En estados unidos se produce en forma comercial un antígeno teñido para realizar la prueba rápida de aglutinación en placa, la cual proporciona un diagnóstico presuntivo que debe confirmarse con otros métodos, esta prueba es altamente sensible y con ella se detectan anticuerpos desde las primeras

semanas de infección. La interpretación debe efectuarse con suma precaución, pues es común la reacción de presencias “falsas positivas”; en contraste, esta prueba es sumamente significativa en el caso de resultados negativos, ya que numerosas investigaciones han demostrado que no se presentan reacciones falsas negativas. En muchas ocasiones sueros con títulos bajos de aglutinación corresponden en realidad a reacciones “falsas positivas”, que pueden ser producto de infecciones por microorganismos que poseen ciertas características antigénicas en común con *B. canis*; pero en muchos casos dichas reacciones pueden ser en efecto indicios de que los animales sufrieron la infección pero actualmente se encuentran en proceso de recuperación; o bien de que la infección está localizada en ciertos tejidos, desde donde no produce considerable estimulación al sistema inmune. 4

Otros métodos serológicos frecuentemente empleados en los laboratorios incluyen: aglutinación en tubo (AT), aglutinación en tubo en presencia de 2 mercaptoetanol (2-ME), fijación de complemento (FC), inmunofluorescencia e inmunodifusión en gel. Hasta la fecha no se ha logrado la estandarización de ninguno de estos procedimientos; sin embargo, se ha encontrado que la prueba de 2-ME es acertada en el diagnóstico de animales activamente infectados, en los que títulos de 1:200 o mayores son considerablemente significativos. Esta prueba, al igual que la prueba en tubo, puede fallar en la identificación de animales con títulos bajos de

anticuerpos. Estudios recientes en los que se empleó inmunodifusión con antígenos preparados con *B. ovis* o con *B. canis* señalaron la ventaja de realizar el diagnóstico de la enfermedad mediante el uso simultáneo de cualquiera de los métodos de aglutinación en tubo (TAT o 2-ME), y la prueba de inmunodifusión. En muchas ocasiones en las que mediante las técnicas de aglutinación se obtuvieron resultados dudosos con suero de animales infectados, la prueba de inmunodifusión produjo resultados positivos. De manera similar muchos sueros con títulos nulos o bajos de aglutinación produjeron líneas de precipitación diferentes de las que se presentan en sueros control positivos, sugiriendo que dichos anticuerpos son consecuencia de condiciones inespecíficas. Es importante señalar que los sueros empleados para diagnóstico deben ser libres de contaminación y no presentar hemólisis, pues esta interfiere con la interpretación de los resultados y en ocasiones se producen reacciones falsas. Dada la importancia que representan los animales infectados en la diseminación de la enfermedad, es recomendable el empleo de por lo menos dos procedimientos serológicos antes de llegar a un diagnóstico definitivo. Los resultados de la aglutinación rápida en placa deben considerarse única y exclusivamente como presuntivos. En todos los casos se recomienda practicar hemocultivos y siempre que haya abortos se debe intentar el aislamiento a partir de los productos abortados. 4

Los estudios epidemiológicos en poblaciones humanas deben incluir procedimientos bacteriológicos. Los resultados serológicos deben interpretarse en forma conservadora, especialmente cuando no existen fuertes evidencias clínicas que sugieran la presencia de la infección, de lo contrario se puede incurrir en graves errores, como es el caso de una publicación en la cual se señala que el 67.8% de una población muestreada al azar se encuentra infectada con *Brucella canis*. Esta conclusión fue obtenida como resultado del empleo de un método de microaglutinaciones, en el cual se consideró significativo cualquier título de 1: 12. Otros investigadores, implementando criterios más conservadores, registraron cifras de prevalencia en el hombre con niveles de aproximadamente 0.4%. En la ciudad de México se encontró una prevalencia de más de 13% de reactores serológicos, aun cuando se registraron como positivos solamente los casos en los que se produjeron reacciones completas de aglutinación en las diluciones 1: 200 o superiores.

4

Sabemos entonces que el diagnóstico serológico de brucelosis es difícil, debido a que los antígenos de la superficie de la *Brucella* producen reacción cruzada con los anticuerpos contra los microorganismos no patológicos comúnmente hallados en los perros, y que la prueba de aglutinación rápida en placas tiene un valor predictivo negativo alto. Por lo tanto los animales que son positivos a esta prueba deberán ser considerados como sospechosos pero no como infectados hasta que no se realicen otras pruebas, como el

test de aglutinación en tubo y el test de inmunodifusión en agar, no obstante el hemocultivo sigue siendo la prueba definitiva para diagnosticar la infección. Igualmente es de gran importancia este diagnóstico para la prevención de transmisión de la enfermedad, ya que de este depende controlar riesgos epidemiológicos y zoonóticos debido a que esta enfermedad también se puede contagiar al humano por medio de contacto, inhalación, ingestión o autoinoculación de secreciones vaginales de perras, fetos abortados y orina de estos animales. Aun así nuestra hipótesis previa fue: “en el diagnóstico de la *Brucella canis* en perros sometidos a prueba de aglutinación en el laboratorio Syngamia de la universidad de Antioquia provenientes de criaderos de la ciudad de Medellín y del oriente de Antioquia durante el año 2010 se obtendrá una seroprevalencia baja”, aclarando por supuesto que los escasos hallazgos de seropositividad representan realmente una altísima tasa epidemiológica debido a la capacidad de incidencia y prevalencia que tiene la enfermedad en los caninos, aparte del riesgo zoonótico (aspectos ya explícitos en las bases teóricas que se han planteado al comienzo de la introducción).

Es entonces la brucelosis canina una enfermedad infecciosa y contagiosa que afecta a los perros y además es de carácter zoonótico, siendo este un gran problema, más no aquel que pretende abarcar y resolver nuestro estudio, ya que nos hemos proyectado hacia el análisis de resultados diagnósticos realizados en el año 2010 por el laboratorio Syngamia de la universidad de

Antioquia con el fin de poder llegar a conclusiones que nos permitan deducir el impacto que tiene actualmente la brucelosis canina en el área metropolitana y del oriente antioqueño, siendo preciso argumentar dicho fin mediante el término de “evaluar el avance epidemiológico basándonos en el análisis de dichos resultados y comparándoles con estudios de análisis realizados ya por miembros del grupo biogénesis a través del laboratorio Syngamia en años pasados”. Vale la pena también exponer nuestra hipótesis acerca del porque el laboratorio Syngamia habría realizado estudios de análisis descriptivo alrededor de ésta misma problemática, y el hallazgo principal que proponemos es precisamente su voluntad de disponer dichos estudios hacia la evaluación del impacto que tiene la enfermedad como tal en nuestro medio y las consecuencias del desconocimiento de la existencia y desarrollo epidemiológico de ésta enfermedad por parte de los criadores de caninos. Es entonces el objetivo principal hacia el cual está direccionado este proyecto el identificar la frecuencia de seropositividad de *Brucella canis* en perros sometidos a prueba de aglutinación rápida en placa, realizada en el laboratorio Syngamia de la universidad de Antioquia, provenientes de criaderos de la ciudad de Medellín y del oriente Antioqueño.

Algunas de las variables (objetivos específicos) tenidas en cuenta para el desarrollo de este estudio son: Comparar la seroprevalencia de *Brucella canis* en individuos procedentes de criaderos del oriente

y del área metropolitana en el año 2010, Determinar la seroprevalencia de *Brucella canis* teniendo en cuenta raza y tamaño de los individuos, Comparar por rango de edad, en qué etapa están más propensos a contagiarse de la enfermedad, Analizar cuál género sexual tiene mayor cantidad de individuos infectados e Identificar los factores de riesgo que más ocasionan la presencia de la *Brucella canis* comparando datos en perros evaluados por el laboratorio Syngamia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El tipo de estudio realizado fue de carácter descriptivo.

Población y muestra: En el laboratorio Syngamia de la universidad de Antioquia se realizó el diagnóstico de *Brucella canis* en una población tomada a conveniencia, conformada por 381 individuos de los cuales 220 provenían de 11 criaderos localizados en el área urbana de la ciudad de Medellín y 161 provenían de 7 criaderos localizados en el área rural del oriente antioqueño.

Plan de recolección:

Métodos diagnósticos: El diagnóstico tamiz de seropositividad, se ejecutó con la prueba de aglutinación rápida en placa, con la cepa (-) de *B. canis*, adicionando 2-B-mercaptoetanol y 50 ul. de antígeno. Se esperan hasta dos minutos observando las muestras en un aglutinoscopio, determinando como positivas aquellas que presentan aglutinación fina. El antígeno es procesado en el

laboratorio Syngamia de la Universidad de Antioquia, a un volumen celular de 6 a 8% de la cepa cultivada, cosechada e inactivada, con un PH de 7,4.

A la mayoría de los pacientes se les solicitó una muestra nueva de sangre completa para realizar hemocultivo. En muestra de sangre entera, se colectó inicialmente, en agar sangre; luego se siembra en agar tripticasa soya y se cultiva a 37°, por 48 horas.

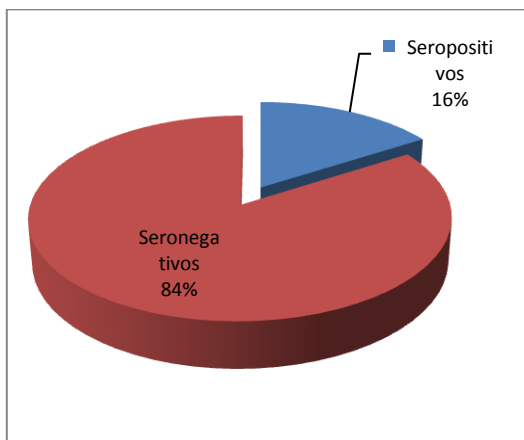
Tabla de recolección de datos:

AÑO	PROCEDENCIA		SEROPREVALENCIA		EDAD	RAZA	SEXO	TAM AÑO
	Área urbana	Área rural	Negativa	Positiva				
2010								

En la población canina conformada por 381 individuos de los cuales 220 provenían de 11 criaderos localizados en el área urbana de la ciudad de Medellín y 161 provenían de 7 criaderos localizados en el área rural del oriente antioqueño, se encontró tras analizar los resultados obtenidos en la prueba de aglutinación rápida realizada en el laboratorio Syngamia de la universidad de Antioquia una seroprevalencia del 16%, este porcentaje representa un alto factor de riesgo para los caninos de los criaderos evaluados debido a las condiciones técnicas y de manejo que se dan en la mayoría de los criaderos, donde, principalmente los servicios reproductivos se hacen por monta natural y donde los perros seronegativos comparten espacios comunes con los seropositivos, aumentando el riesgo de infección, al estar en contacto estrecho con secreciones vaginales, prepuciales, sangre, orina y heces (Ramírez et al. 2006; Castillo et al. 2002; Carmichael y Shin, 1999).

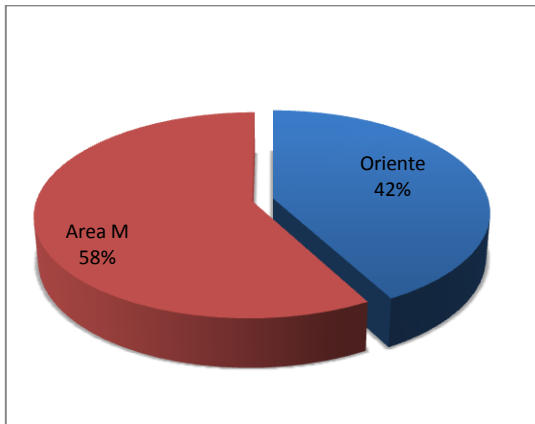
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gráfica 1. Porcentaje de seropositividad y seronegatividad de caninos diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.

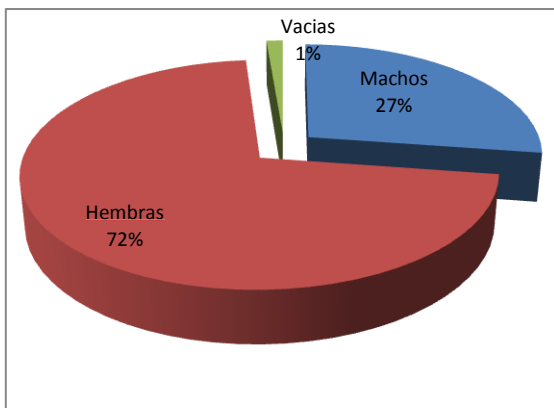


El 16% de las muestras seropositivas representan una frecuencia de presentación de esta enfermedad más alta comparada con estudios similares, como son: *Brucella canis* EN MEDELLÍN (COLOMBIA) UN PROBLEMA ACTUAL donde se encontró una seropositividad del 11% y seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del centro de bienestar animal la perla, Medellín (Colombia) 2008 donde la seropositividad fue del 6,78%.

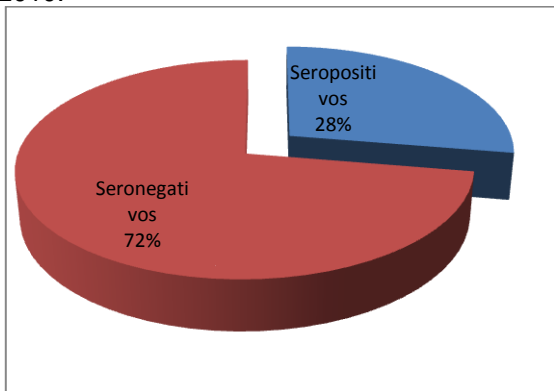
Gráfica 2. Porcentaje de caninos procedentes del área metropolitana y el oriente antioqueño diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



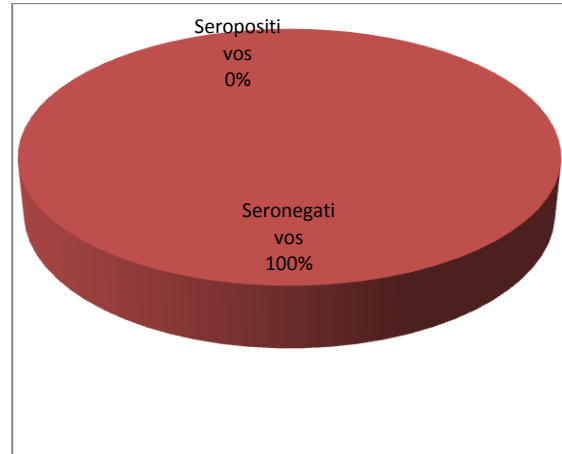
Gráfica 3. Porcentaje del sexo de caninos diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



Gráfica 4. Porcentaje de seroprevalencia de caninos procedentes del área metropolitana diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



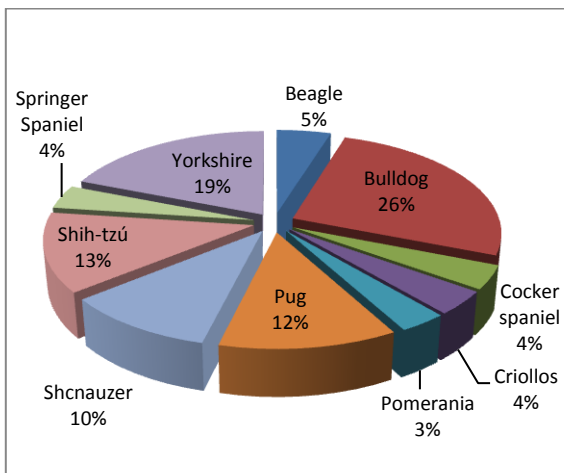
Gráfica 5. Porcentaje de la seroprevalencia de caninos procedentes del oriente antioqueño diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



Al comparar la seroprevalencia de *Brucella canis* según la procedencia de los caninos (criaderos de la ciudad de Medellín y del oriente Antioqueño) se encontró que la seropositividad en la ciudad de Medellín es del 100% y en el oriente Antioqueño es del 0%, lo que indica que ninguno de los individuos evaluados del Oriente presentan *Brucella canis*; este hallazgo es de gran importancia pues nos conduce a generar nuevas hipótesis acerca del por qué los caninos del oriente son seronegativos todos, mientras en la ciudad de Medellín si hay individuos seropositivos, teniendo en cuenta que todos proceden de criaderos; cuales son los factores que influyen en este resultado, pueden ser condiciones de manejo y prevención que tienen los criaderos de oriente y no los de Medellín, pueden ser factores ambientales o climáticos, entre otros ; para entender cuál es el mecanismo por el cual se da 100% de seronegatividad en caninos de criaderos del oriente se abren las

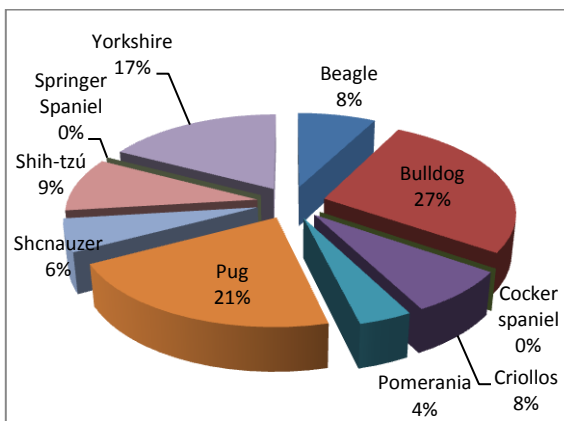
puertas a que se generen nuevas investigaciones acerca de este hecho para generar hipótesis que den solución a la pregunta formulada tras haber terminado esta investigación.

Gráfica 6. Porcentaje de razas más afectadas por *Brucella canis* diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



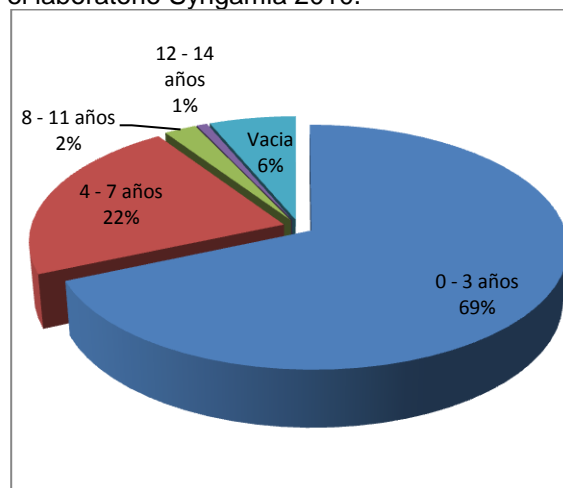
En el análisis de datos nos encontramos con resultados que hablan acerca de la raza, estos nos muestran las más afectadas por *B. Canis* en criaderos del área metropolitana y oriente, con su respectivo porcentaje.

Gráfica 7. Porcentaje de seropositividad *Brucella canis* en las razas diagnosticados en el laboratorio Syngamia. 2010.

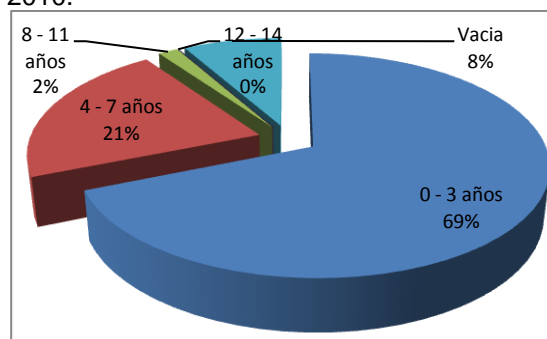


Al igual que otros estudios de seroprevalencia de *B. canis* (Ramírez et al. 2006; Castillo et al. 2002; Almeida et al. 2004; Megid et al. 1999; Carmichael y Shin, 1999) no fue posible encontrar una asociación entre la raza y el diagnóstico serológico; no obstante se hallaron unas frecuencias de seropositividad importantes en el 8% y el 17% entre las principales razas de criaderos del área metropolitana y del oriente (beagle, bulldog, cocker spaniel, criollos, Pomerania, pug, schnauzer, shih-tzu, springer spaniel y yorkshire).

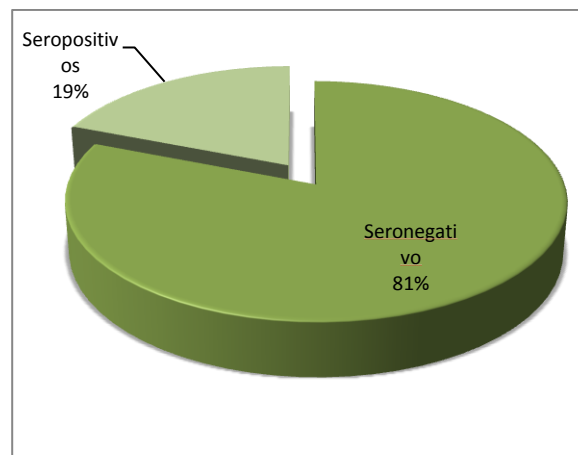
Gráfica 8. Porcentaje de edad de los caninos, agrupados por rango de edad evaluados en el laboratorio Syngamia 2010.



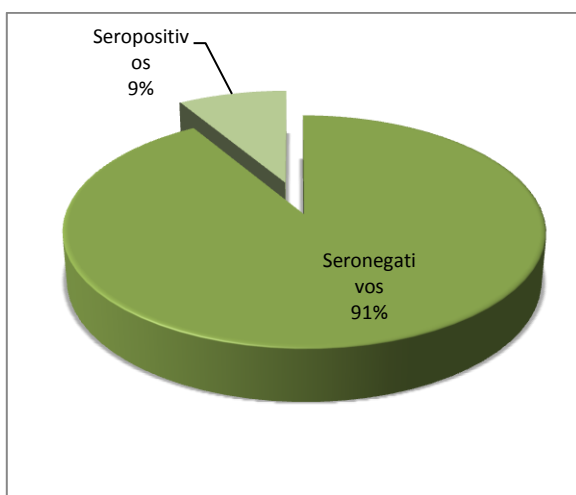
Gráfica 9. Porcentaje de caninos seropositivos agrupados por rango de edad, diagnosticados en el laboratorio Syngamia 2010.



Se comparó por rango de edad en que etapa están más propensos los caninos a contagiarse de la enfermedad agrupándolos en rangos de 0 a 3, 4 a 7, 8 a 11 y 12 a 14 años; se considera que la edad no es un factor predisponente y que los caninos se pueden enfermar en cualquier etapa de sus vidas (Carmichael y Shin, 1999). No se encontró una asociación entre seropositividad y seronegatividad con el rango de edad, lo cual es similar a los hallazgos de los estudios mencionados anteriormente; sin embargo se encontró un mayor número de muestras remitidas y mayor seropositividad, en los caninos de 0 a 3 años de edad, posiblemente, debido, a que al ser jóvenes tienen una mayor actividad reproductiva.



Gráfica 10. Porcentaje de seropositividad y seronegatividad en machos analizados en el laboratorio Syngamia 2010.



Gráfica 11. Porcentaje de seropositividad y seronegatividad de hembras analizadas en el laboratorio Syngamia 2010.

Respecto a la frecuencia de presentación de la enfermedad según el sexo, se obtuvieron resultados entre machos y hembras (19% hembras y 9% machos seropositivos), sin una asociación significativa, ya que la población de hembras era mucho mayor a la de los machos (72% hembras y 27% machos evaluados).

CONCLUSIONES

- ✓ Se encontró una seroprevalencia para B.canis del 16% en los criaderos del área metropolitana y el oriente antioqueño evaluados; lo que indica que hay un porcentaje alto por el riesgo epidemiológico.
- ✓ Se encontró una diferencia estadística significativa entre la seropositividad de los criaderos del área metropolitana (27.6%) y el oriente antioqueño (0%).
- ✓ No se encontró una relación entre raza y nivel de contagio. No obstante se hallaron grupos raciales con mayor número de

individuos evaluados, dado que son las razas que estuvieron de moda en el 2010.

- ✓ No se encontró una asociación entre la seropositividad o seronegatividad con el rango edad del animal.
- ✓ Las muestras remitidas fueron en su mayoría de caninos menores de 3 años; posiblemente debido a que por ser jóvenes tienen una mayor actividad reproductiva.
- ✓ De acuerdo al sexo, se encontró que el 9% de los machos y el 19% de las hembras presentan seropositividad; estos datos son directamente proporcionales al tamaño de la población, sin encontrar una diferencia significativa entre la variable sexo

RECOMENDACIONES

- ✓ Capacitar a los propietarios de mascotas y la población en general sobre el impacto de la brucelosis canina y la tenencia responsable de mascotas.
- ✓ Las hembras que serán servidas y los machos que se usen en monta directa para el servicio, deben tener al menos un examen negativo 1 semana antes del servicio.
- ✓ si los propietarios desean reproducir se recomienda que se use la inseminación artificial.

- ✓ los criaderos deben contar con asesoría profesional en los aspectos de salud, prevención de enfermedades y manejo genético.
- ✓ al introducir un animal nuevo a un criadero, éste debe permanecer en cuarentena al menos 30 días y se le deben practicar dos exámenes séricos durante este periodo
- ✓ se recomienda el sacrificio de los animales seropositivos.
- ✓ En caso de ser propietario o trabajar en criaderos donde hay seroprevalencia positiva, las personas deben hacerse pruebas serológicas y en caso de resultar positivos remitirse al médico.

BIBLIOGRAFÍA

1. C, Borie, MV; R. Cepeda, Tec. Med.; M. Villarroel, M.V.; de los reyes, MV; MS; Descripción de características reproductivas en tres perros seropositivos a *Brucella canis*; Arch. Med. Vet. V.34 n.1, 2002; facultad de ciencias veterinarias, universidad austral de Chile; Valdivia (Chile); 2012.
2. Ruiz Buitrago, Jhon Didier; Giraldo Echeverri, Carlos Andrés; López, Laura V; Chica, Juan F; seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del centro de bienestar animal la perla, Medellín (Colombia) 2008; revista colombiana de ciencias pecuarias

- (Medellín); volumen 23; N°2; p 166-172; junio de 2010.
- reproducción canina y felina. Ed. Biogénesis (Colombia). p.249-265
3. Giraldo Echeverri, Carlos Andrés; Ruiz Cortez, Zulma Tatiana; Olivera Ángel, Martha; *Brucella canis* en Medellín (Colombia), un problema actual; revista U.D.C.A.: actualidad y divulgación científica (Bogotá); vol.12; N° 02; Pág. 51-57; junio de 2009.
 4. Flores Castro, Ricardo; A Backer, James; Brucelosis causada por *Brucella canis*; Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias S.A.R.H., Palo alto (México DF); 2000.
 5. López, M., C. Leyton, M. Graf.1982. Técnicas de histología y citología. 2a ed. Depto. de Biología y Genética, Fac. Medicina. Universidad de Chile, 242 p; 2002.
 6. Barlough, Jeffrey E; Manual de las enfermedades infecciosas en pequeños animales; editorial médica panamericana S.A.; 1992.
 7. Carmichael, L. E., C. E. Greene, Brucelosis canina. En: Enfermedades infecciosas de los perros y los gatos. Interamericana McGraw-Hill, pp. 604-616; 1993.
 8. Borie, C., Pinochet, L. Brucelosis canina: Conceptos generales y estudios realizados en el país. Monog. Med. Vet. 9: 70-78; 1987.
 9. BORIE-POLANCO, C. 2005. Infertilidad canina por *Brucella canis*. En: Olivera, M; Gobeló, C (eds.) El libro LatinoAmericano de reproducción canina y felina. Ed. Biogénesis (Colombia). p.249-265
 10. CARMICHAEL, L.E; SHIN, S.J. 1999. Brucelosis canina causada por *Brucella canis*. Am. J. Vet. Res. 37: 220-223