

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO RETROSPECTIVO DE BRUCELOSIS
CANINA Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO USADOS EN ALGUNOS
CENTROS VETERINARIOS EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ

CARLOS EDUARDO DÍAZ CANO

DHAYAN STEPHAN RAMÍREZ RÍOS

Tutor

ALBA LUCIA REY C.

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

2019

Abstract

Canine brucellosis is a disease caused by the bacterium *Brucella canis* which is transmitted by contact with placental tissues, aborted fetuses, vaginal and seminal secretions from infected animals. The most important signs are abortion, epididymitis, orchitis and infertility problems. A good percentage of Colombian population lives in Bogotá D.C. and year after year its canine population also increase; this represents a risk factor for brucellosis transmission because it is a zoonotic disease. However, there are few epidemiological studies or they are outdated regarding the canine brucellosis frequency and its possible risk factors; similarly, it is interesting to know what diagnostic techniques to confirm infection are used in veterinary clinics. This study provides retrospective epidemiological information from 2016 to 2018 in some veterinary centers in Bogotá. Thirty seven stories of canines with clinical signs compatible with the disease were evaluated; 59.5% was confirmed as positive and 5.4% as negative for canine brucellosis by serological diagnostic tests (Elisa, Immunofluorescence and Immunochromatography); 35.1% could not be confirmed. Males were more affected than females, as were the Beagle, Creole, Golden Retriever breeds; the highest frequency of dogs was between 3 and 4 years old and they were not sterilized. These results confirm the importance and the need for more thorough and frequent epidemiological studies that report canine brucellosis situation not only in Bogotá but in other areas of the country.

Resumen

La brucelosis canina es una enfermedad causada por la bacteria *Brucella canis* la cual se transmite por contacto con tejidos placentarios, fetos abortados, secreciones vaginales y seminales de animales infectados. Los signos más importantes son aborto, epididimitis, orquitis y problemas de infertilidad. En Bogotá D.C, es donde se encuentra el mayor porcentaje de población de Colombia, así mismo aumenta año tras año su población canina, lo que supone un factor de riesgo para la transmisión de brucelosis, la cual es una enfermedad zoonótica. Sin embargo, existen pocos estudios epidemiológicos o son desactualizados con respecto a la frecuencia de presentación de la entidad y sus posibles factores de riesgo; de igual modo es interesante saber cuáles son las técnicas de diagnóstico que están siendo utilizadas en las clínicas veterinarias para confirmar la infección en los caninos. El presente estudio aporta información epidemiológica retrospectiva desde el año 2016 al 2018 en algunos centros veterinarios de Bogotá. Se encontraron 37 historias de caninos con signos clínicos compatibles con la enfermedad; de este grupo el 59.5% fueron confirmados como positivos y un 5.4% como negativos a brucelosis canina mediante alguna prueba diagnóstica serológica (Elisa, Inmunofluorescencia e inmunocromatografía), el 35.1% no pudo ser confirmado. Los machos fueron más afectados que las hembras así como las razas Beagle, criollos, Golden retriever; la mayor frecuencia de perros tenía entre 3 a 4 años y no estaban esterilizados. Estos resultados confirman la importancia y necesidad de realizar estudios epidemiológicos más exhaustivos y frecuentes que informen sobre la situación de la enfermedad no solo en Bogotá sino en otras zonas del país.

Tabla de contenido

Capítulo 1. Introducción.....	8
Capítulo 2. Marco Teórico.....	10
2.1 Historia.....	10
2.2 <i>Brucella</i> en Colombia.....	10
2.3 Etiología.....	11
2.4 Epidemiología.....	11
2.5 Transmisión.....	14
2.6 Fisiopatológica.....	14
2.7 Signos clínicos.....	16
2.8 Respuesta inmune en caninos.....	17
2.9 Diagnóstico.....	18
2.9.1 Diagnóstico indirecto.....	18
2.9.2 Diagnóstico directo.....	20
2.10 Tratamiento.....	21
2.10.1 Caninos.....	21
2.10.2 Humanos.....	21
Capítulo 3. Objetivos.....	23

3.1 Objetivo general.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
Capítulo 4. Metodología.....	24
4.1 Tipos de estudio.....	24
4.2 Zonas de estudio.....	24
4.3 Recolección de la información clínica.....	25
4.4 Recolección de la información paraclínica.....	26
4.5 Procesamiento de información.....	26
Capítulo 5. Resultados.....	27
5.1 Análisis de casos clínicos.....	27
5.2 Identificación de los métodos diagnóstico de la brucelosis.....	32
5.3 Determinación de posibles asociaciones entre brucelosis canina y las variables.....	33
Capítulo 6. Discusión.....	34
Capítulo 7. Conclusiones.....	37
Capítulo 8. Referencias.....	38

Lista de Tablas

Tabla 1. Hallazgos anatomopatológicos en fetos.....	17
Tabla 2. Número de casos y frecuencia de Brucelosis por sexo en los caninos objetos de estudio.....	27
Tabla 3 Frecuencia de brucelosis por raza en los caninos objetos de estudio.....	29
Tabla 4 Frecuencia de brucelosis por edad.....	30
Tabla 5 Número de casos y frecuencia de brucelosis por estado reproductivo.....	31
Tabla 6 Número de casos y frecuencia de brucelosis por estrato económico del propietario de los caninos objetos de estudio.....	32
Tabla 7 Métodos diagnósticos utilizados en los centros clínicos objeto de estudio.....	33

Lista de Figuras

Figura 1. Mapa de la localización de las diferentes localidades de la ciudad de Bogotá.....	25
Figura 2. Número de casos clínicos por sexo en la población.....	28
Figura 3. Número de casos clínicos por raza en la población.....	29
Figura 4. Número de casos clínicos por edad en la población canina estudiada.....	30
Figura 5. Número de casos clínicos por estado reproductivo en la población canina estudiada...	31
Figura 6. Número de casos clínicos por estrato socioeconómico del propietario.....	32

Capítulo 1. Introducción

Según datos obtenidos de la Alcaldía de Bogotá D.C, existen aproximadamente 955.479 mascotas en la sabana, de los cuales 235.000 son animales callejeros, 145.000 felinos y 90.000 caninos; se estiman 720.479 animales domésticos, con 497.130 caninos. El 84% de las mascotas bogotanas pertenecen a los estratos 1, 2 y 3 (Minsalud- OPS, 2012).

En Bogotá D.C, es donde se encuentra el mayor porcentaje de población de Colombia con respecto a otras ciudades, así mismo aumenta año tras año su población canina tanto domésticos como animales callejeros, lo que podría suponer un gran factor de riesgo para el aumento de infección y de transmisión de enfermedades. La brucelosis canina no es una excepción, ya que tiene diferentes mecanismos de transmisión y un alto riesgo zoonótico, es una enfermedad de gran importancia tanto en el ámbito reproductivo de los criaderos, para las mascotas de los hogares bogotanos, para los caninos que viven en las calles así como por el riesgo de transmisión que representan también para la población humana que puede llegar a adquirir la enfermedad por medio de sus mascotas (Agudelo, Castro, Rojo & Henao, 2012).

Esta investigación surgió a partir de la insuficiencia de datos con respecto a la presentación de brucelosis canina o hallarlos desactualizados, los cuales no dan a conocer una realidad más cercana de la situación e importancia epidemiológica que impone *Brucella canis* como factor de riesgo tanto para humanos como para los mismos animales.

Muy importante también, es la información que puede brindar el conocer qué características en los animales pueden predisponerlos a contraer la enfermedad, que signos son los más evidentes para el reconocimiento de un caso de brucelosis y cuáles son las técnicas diagnósticas más frecuentemente usadas; es interesante saber además qué papel juega el estrato

socioeconómico al cual pertenecen los animales afectados dado que esta característica podría ser un factor de riesgo importante para la presentación de la brucelosis canina.

Por lo anterior, no solo los médicos veterinarios se verán beneficiados sino también la comunidad estudiantil y la población en general al instruirse acerca de cómo identificar un canino con brucelosis, y que tan frecuente es en algunas zonas de la capital colombiana.

Capítulo 2. Marco Teórico

2.1 Historia.

Brucelosis, también conocida como la enfermedad de Bang, es una enfermedad propia de los mamíferos, descubierta por Sir David Bruce, un cirujano de la guerra inglesa quien identificó esta enfermedad en 1887, encontrándola en los bazo de los soldados antes de su autopsia, quienes morían de fiebre. Posterior a esto, Carmichael y Bruner en 1968, descubrieron el agente *Brucella canis* en perros, el causante de aborto contagioso en caninos, especialmente en criaderos de perros (Shin & Carmichael, 1999). Esta bacteria se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo y puede llegar a infectar una gran variedad de animales (Borie & Pinochet, 1987; Ramírez, Calle, Echevarría & Morales, 2006; Wanke, 2004).

2.2 *Brucella* en Colombia.

Un estudio revela que el crecimiento neto anual de la población canina es de 42,95% en perros y 43,48% en gatos, lo que establece la necesidad de crear estrategias de control poblacional (Minsalud-OPS, 2012). Este crecimiento trae consigo el aumento de problemas sanitarios, como la brucelosis canina, lo cual, es un inconveniente de salud pública, por su potencial zoonótico (Giraldo, Ruíz & Olivera, 2009).

Se realizó un estudio en el año 2009 en la ciudad de Medellín (Antioquia), en donde se evaluaron 441 perros, los cuales 147 eran machos; estos caninos eran de las razas Poodle, Labrador, Schnauzer, Pincher, Fox terrier, Beagle y criollos. La seroprevalencia de *Brucella Canis* estaba en un 2.76%, es decir que 12 caninos eran positivos para *Brucella canina*, de los cuales 7 eran hembras y 5 machos, predominando la edad de infección entre 1 y 5 años (Agudelo et al., 2012).

2.3 Etiología.

El género *Brucella* pertenecen a la familia Brucellaceae; esta familia, pertenece al orden Rhizobiales. Las especies de *Brucella* se clasifican como lisas o rugosas, las cepas lisas infectan por lo general a las hembras, se reconocen seis especies terrestres, taxonómicamente aceptadas a nivel internacional: *Brucella melitensis* (ovejas, cabras, camellos); *Brucella abortus* (bovinos, bisontes, búfalos); *Brucella suis* (cerdos y animales salvajes); *Brucella canis* (perros); *Brucella ovis* (carneros) y *Brucella neotomae* (ratas). “La brucelosis bovina es la más ampliamente distribuida; en seres humanos, *B. mellitensis* (que afecta al ganado ovino) es la más importante desde el punto de vista clínico” (Castro, Gonzales & Prat, 2005); pero no podemos dejar atrás la *Brucella canis* que es la que afecta a los animales domésticos en las grandes metrópolis del mundo (Wanke, 2004)

Los agentes del género *Brucella* tienen forma esférica, son gramnegativos con estructura compleja y carecen de flagelos. *Brucella* es un patógeno intracelular, no requiere suero ni CO₂ para su crecimiento. Esta bacteria es capaz de diseminarse hacia órganos como: bazo, hígado, glándulas mamarias y útero, dando como resultado una respuesta de células inflamatorias. *Brucella canis* está permanentemente en su forma rugosa, tiene una baja virulencia causando infecciones leves y asintomáticas tanto en humanos como en animales (Méndez, Trujillo, Duque, Acero, Cabrera & Pachón, 2013).

2.4 Epidemiología.

La brucelosis canina causada por *Brucella canis*, se ha registrado en muchos países como Argentina, Brasil, Canadá, Alemania, Perú, Inglaterra, Japón, Nigeria, entre otros (Borie & Pinochet, 1987). Sin embargo, la distribución mundial de esta enfermedad, puede ser aún más

extensa en la actualidad, debido a las dificultades en el diagnóstico. La ingesta de carne de ganado vacuno o caprino cruda casi nunca es la causa de adquisición del agente, debido a que el número de bacterias en el musculo es escaso, su transmisión se debe al contacto directo con desechos y contacto indirecto con aerosoles (Freer & Castro-Arce, 2001; Méndez et al., 2013).

La brucelosis canina se ha convertido en un serio problema de salud pública en diversos países y ciudades del mundo, por la alta población de animales en estado de abandono y deambulación sin control sanitario (Pardo, Pérez, Góngora, Gómez & Moreno, 2009). En Colombia la brucelosis canina era desconocida, aunque se había reportado evidencia serológica no se había aislado la bacteria como una prueba definitiva de la existencia en el país, esto último ayudado por el hecho de que no se consideraba una enfermedad de notificación obligatoria por el ministerio de salud (Castillo, Cetrino & Moreno, 2002; Olivera & Di-Lorenzo, 2009; Ulloa & Hernández, 1978).

La mayoría de reportes en Colombia están basados en estudios serológicos pero estudios de prevalencia real de infección o enfermedad son escasos especialmente en la ciudad de Bogotá. En Medellín y otras ciudades de Colombia, la seropositividad supera el 8,9% reportada por Giraldo *et al.* en el 2009, para caninos de criaderos en el área metropolitana. Previos estudios hechos por Jara et al., en 2005 reportaron una frecuencia en Valle de Aburrá de 17,2%, en esta misma región (Jara, Perez, Di-Lorenzo & Olivera, 2005). Giraldo *et al.*, (2009) también compararon estudios de seropositividad en centros urbanos, donde no se discrimina la procedencia de los caninos; sin embargo, la seroprevalencia fue mayor a la reportada en Bogotá (20%) entre 2001 y 2002. En Latinoamérica los casos reportados de seroprevalencias son en el distrito de Callao, Perú (15,6 %); Buenos aires, Argentina (7,3%) y en Brasil (14,2%) (Castrillón, Giraldo, Sánchez & Olivera, 2013; Giraldo et al., 2009).

En la ciudad de Villavicencio la seropositividad de *B. canis* fue de 1.49%, más baja y menor (3.2%) a la obtenida por Ulloa y Hernández, en perros de la ciudad de Bogotá en 1978 (Pardo *et al.* 2009). En contraste existe un mayor número de reactores en Medellín en un estudio en 157 animales, de los cuales 27 (17.20%) fueron seropositivos. En la actualidad, no se han realizado estudios en otras ciudades de Colombia que permitan conocer la situación real de esta enfermedad (Ulloa & Hernández, 1978).

En otros países, las prevalencias encontradas varían entre bajas a moderadamente altas, por ejemplo en Estados Unidos en Alabama fue de 77.4%, Nashville de 18.7%, Memphis de 10% y Georgia de 9% (Galphin, 1977). En animales callejeros la tasa de reactores serológicos fue baja, en ciudades como Detroit fue de 6.6%, Illinois y Wisconsin de 6.7%, Georgia de 8% (Brown, Blue, Wooley, Dreesen & Carmichael, 1976; Thiermann, 1980); en Brasil en Río de Janeiro fue de 29.4% y Niterói de 19.2% (Maia, Rossi, Abaddi, Vieira & Moraes, 1999). En la India se reportan valores similares a los encontrados en este estudio 2.18% (Pillai, Nedunchelligan & Raghavan, 1991) y 2% (Srinivasan, Nedunchelliyan & Venkataraman, 1992) respectivamente (Pardo *et al.*, 2009).

La brucelosis canina es declarada como un problema de salud pública en Colombia; se requiere reglas nacionales para el buen manejo de esta enfermedad que impacta a la población humana, tal como se indica en la resolución N° 7231 del 13/06/2017 por el ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). Es necesario hacer un estudio epidemiológico en humanos que conviven con caninos para aportar elementos que sirvan para alertar a la población en riesgo y a las autoridades sanitarias (Olivera & Di-Lorenzo, 2009).

2.5. Transmisión.

La brucelosis canina es una enfermedad no letal pero si de carácter crónico, que puede llegar afectar perros de cualquier edad, raza y sexo (Borie & Pinochet, 1987). La transmisión de *Brucella canis* se da generalmente a través del contacto con tejidos placentarios contaminados, fetos abortados, líquidos fetales, secreciones vaginales o semen de animales infectados, aunque los rumiantes pueden ser portadores a través de la eliminación de leche con presencia de *Brucella abortus* (Briseño, Páramo, Flores & Suárez, 2004; Wanke, 2004). El ingreso de *Brucella canis* se produce por ingestión y a través de las membranas mucosas, la piel lastimada y se ha demostrado que con la piel intacta también puede ser adquirida (Ardoino, Baruta & Toso, 2006).

La mayoría de las especies de *Brucella* se encuentran también en el semen, los machos pueden eliminar estos organismos durante períodos prolongados mediante la orina y la cópula (Shin & Carmichael, 1999; Smith & Dobson, 1992). Al mismo tiempo, se han visto especies de *Brucella* en secreciones como heces, saliva, secreciones nasales y oculares. En condiciones de humedad alta, temperaturas bajas y de poca luz solar, *Brucella canis* puede permanecer viable durante varios meses en el agua, fetos abortados, estiércol, lana, heno y material de trabajo (Castrillón et al., 2013).

2.6 Fisiopatología.

Brucella canis tiene propensión a los órganos reproductivos de los animales maduros sexualmente. Los animales infectados actúan como reservorios en el medio ambiente, los cuales pueden llegar a persistir indefinidamente y pueden darse problemas que van desde la mala reproducción hasta la infertilidad. *Brucella* está preparado para sobrevivir y multiplicarse en los

macrófagos debido a su capacidad de eludir los mecanismos de fagocitosis a través de la inhibición de la degranulación del macrófago este patógeno elimina agentes e inhibe la producción de TNF. *Brucella canis* resiste la acción del peróxido de hidrógeno del estallido respiratorio a partir de sus enzimas superóxido dismutasa y catalasa, que le permiten eliminar los radicales libres (Ardoino et al., 2006).

La enfermedad comienza con la penetración del organismo a través de lesiones en piel, mucosa orofaríngea, conjuntiva, genital y tracto digestivo, se traslada hasta llegar a la sangre e invade tejidos que contienen gran número de células fagocitarias; también tienen la capacidad de transmitirse por medio de la placenta bovina cuando es ingesta por otros animales como los perros y a través de la lactancia (Borie & Pinochet, 1987).

Después de entrar en el organismo, la bacteria va a invadir los ganglios linfáticos regionales; cuando vence al sistema inmunitario, se propaga por vía linfática o sanguínea (bacteremia), en el hígado, bazo y genitales, además tiene la capacidad de alojarse en el interior de las células fagocíticas. Si resiste el ataque del sistema inmunitario, la bacteria empieza a multiplicarse en los diferentes órganos ya mencionados provocando procesos inflamatorios. (Borie & Pinochet, 1987) y la presentación de signos clínicos de 1 a 4 semanas post-infección, "*Brucella puede mantenerse en forma intermitente o continúa hasta 64 meses*" (Ardoino et al., 2006).

El periodo de incubación tiene un rango, desde 2 semanas a 1 año, dependiendo la bacteremia que poseía el paciente o el grado de portabilidad de *Brucella* del mismo, los machos actúan como diseminadores hacia el medio, y pueden contaminar a otros animales en un periodo de 4 a 6 meses por medio de la orina que se ha contaminado de fluidos seminales (Ardoino, et al., 2006).

2.7 Signos Clínicos.

Los signos clínicos más importantes de la enfermedad incluyen aborto en las perras, epididimitis en machos, infertilidad en ambos sexos, linfadenitis generalizada, uveítis, discoespondilitis, reducción de los espacios intervertebrales, letargia, pérdida de la libido, agrandamiento ganglionar generalizado, dermatitis escrotal y prostatitis (Briseño et al., 2004).

La mayor tasa de abortos ocurre aproximadamente a los 45-55 días de gestación, y en menor cantidad ocurren abortos tempranos, con expulsión o reabsorción porque *“puede ocurrir muerte embrionaria temprana y reabsorción 10 – 20 días después del servicio”* (Pretzer, 2008; Shin & Carmichael, 1999). Los cachorros abortados se observan parcialmente autolisados, con edema y hemorragias en región abdominal (Giraldo et al., 2009) así como encefalitis, miocarditis, hepatitis, neumonías, nefritis, miositis purulentas o no según lo reporta Lértora, Sánchez, Montenegro & Villordo en 2012 (Tabla 1).

Las hembras que abortan muestran descarga vaginal con olores y colores desagradables, anestros, quistes ováricos y tumores uterinos (Xolalpa, Pérez & Soto, 2003); cuando se presenta reabsorción puede ser desapercibida por el propietario, y ese paciente se convertirá en un foco de diseminación de la enfermedad (Ardoino et al., 2006). En la placenta de las hembras infectadas, se encuentra necrosis focal de las vellosidades coriónicas, lo que puede ser la causa del aborto (Borie & Pinochet, 1987).

Aparece eyaculado sanguinolento, baja concentración y motilidad de los espermatozoides, células espermáticas inmaduras, aglutinación y desprendimiento de cabezas, son unos de los principales signos clínicos en el macho reportados, aparte de epididimitis, orquitis, degeneración testicular, infertilidad y dermatitis escrotal. *“En los perros azoospermicos la espermatogénesis*

está alterada en los túbulos seminíferos, encontrándose que en general sólo avanza hasta espermatocitos primarios, sin presencia de espermátidas, ni espermatozoides asimismo hay alteración de la barrera hematotesticular” (Ardoino et al., 2006).

Tabla 1. Hallazgos anatomopatológicos en fetos y órganos fetales (no se incluyen los casos sin lesiones).

Nº espécimen	necropsia	histopatología
1 feto	Placentitis necrotizante	Placentitis necrotizante
2 feto	Imbibición hemoglobínica	Encefalitis, miocarditis, hepatitis, neumonitis y nefritis no purulenta multifocal
3 feto	Sin lesiones aparentes	Miositis no purulenta multifocal
4 feto	Sin lesiones aparentes	Bronconeumonía purulenta y encefalitis purulenta
5 feto	Hepatomegalia, meconio en vías respiratorias	Bronconeumonía purulenta, tinitis y hepatitis con infiltrado inflamatorio mixto
6 feto	Sin lesiones aparentes	Miocarditis, hepatitis y miositis no purulenta multifocal
7 feto	Sin lesiones aparentes	Encefalitis, miocarditis, hepatitis y miositis no purulenta multifocal
8 feto	Momificado	Meningitis no purulenta difusa y miositis no purulenta multifocal
9 feto	Pericarditis y pleuritis fibrinosa	Meningitis, epicarditis, pleuritis y hepatitis no purulenta difusa
10 feto	onfalotoracópago	No realizada
11 feto	Imbibición hemoglobínica	Sin lesiones aparentes
12 feto	Imbibición hemoglobínica	Sin lesiones aparentes
13 órganos fetales	No realizada	Esplenitis purulenta multifocal
14 órganos fetales	No realizada	Bronconeumonía purulenta
15 órganos fetales	No realizada	Placentitis necrotizante
16 órganos fetales	No realizada	Encefalitis purulenta multifocal
17 órganos fetales	No realizada	Encefalitis, miocarditis y hepatitis no purulenta multifocal
18 órganos fetales	No realizada	Degeneración grasa microvacuolar hepática difusa
19 órganos fetales	No realizada	Degeneración grasa microvacuolar hepática difusa

Imagen de referencia por Lértora et al. (2012)

2.8 Respuesta Inmune en Caninos.

El ingreso de *Brucella* induce la activación del complemento, los neutrófilos y macrófagos por parte de la inmunidad innata. La activación de la vía clásica del complemento puede iniciarse por bajas concentraciones de IgM e IgG. Los neutrófilos son los primeros en tener contacto con la *Brucella*, la cual es capaz de sobrevivir en su interior e inhiben su degranulación lo que evita su autodestrucción, y así ser transportada a tejidos linfoides. Otra de

las células que reacciona ante la presencia de la *Brucella*, son los macrófagos, el ingreso de la bacteria se realiza a través de la interacción de la molécula CD14 y el lipopolisacárido, lo que produce liberación de IL-12, que estimula las NK y los linfocitos T ayudadores, que secretan IFN- γ (Castro et al., 2005).

Los anticuerpos para *Brucella canis* se hacen detectables a partir de las dos semanas post-infección. La alteración de la barrera hematotesticular implica que determinantes antigénicos espermáticos pasen a la circulación periférica, desencadenando una respuesta autoinmune del animal. Este hecho explica la aparición de anticuerpos antiespermáticos y reacciones de hipersensibilidad tardía, además de persistir la orquitis, epididimitis y azoospermia. De esta manera, los perros infectados con *Brucella canis* luego de 3 meses desarrollan anticuerpos séricos que aglutinan los espermatozoides caninos. También han sido observados anticuerpos en plasma seminal, este contiene un factor citofílico para los macrófagos esplénicos normales que causa la adherencia del espermatozoides a los macrófagos (Ardoino et al., 2006).

2.9 Diagnóstico.

2.9.1. Diagnóstico indirecto

La prueba diagnóstica que convencionalmente está disponible tanto para la evaluación de sujetos animales o humanos sospechosos de Brucelosis es la de Rosa de Bengala, la cual consiste en una suspensión de células de *B. abortus* marcadas con colorante rosa de bengala tamponado a pH 3.65 para la inhibición de aglutininas no específicas. Muestra buenos resultados en la brucelosis aguda y falsos negativos en brucelosis crónica. La sensibilidad de la prueba de rosa de bengala está entre el 95 al 99%, por lo cual se considera la mejor prueba costo beneficio para la identificación de sujetos infectados (Castro et al., 2005; Méndez et al., 2013).

Para la *B. canis* se incluyen pruebas como inmunodifusión en gel de agar (AGID) que consiste en utilizar un complejo antigénico con al menos 3 antígenos incluyendo el 2-R, el cual no está presente en ninguna otra bacteria Gram Negativa (Ardoino et al., 2006; Baruta, Ardoino, Riesco & Marengo, 2000).

El ELISA indirecto se usa como prueba complementaria, la cual detecta IgA e IgG, permitiendo evaluar estado clínico o en ocasiones se usa como antígeno un lipopolisacárido rugoso (RLPS), lográndose efectividad del 98,8%, con una especificidad del 91% y una sensibilidad del 95% (Ardoino et al., 2006; Baruta et al., 2000; Oliveira, Freire, Meyer, Keid, Barrouin-Melo & Paulo, 2009).

La prueba de Coombs consta de demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes principalmente IgG. El suero de Coombs se encargará de facilitar la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes en la muestra de suero recolectada, fijados a la suspensión antigénica de *Brucella*. Se pueden presentar posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, y *Yersinia enterocolítica* (Castro et al., 2005).

El RSTA, test rápido de aglutinación en portaobjetos, utiliza como antígeno *Brucella ovis* teñida con Rosa de Bengala, la cual da reacción cruzada con *B. canis*. Esta requiere suero con 2 Mercapto etanol (Baruta et al., 2000).

La inmunofluorescencia consiste en obtener parte de las membranas fetales o fetos abortados, con una tinción de isotiocianato de fluoresceína. Los anticuerpos fluorescentes ocupan un lugar en el examen de las membranas fetales o de los fetos abortados dependiendo cual haya sido la muestra, la ventaja son los rápidos resultados (de 1 a 2 horas) (Alton, Lois & Pietz, 1976).

Existen algunos test rápidos de inmunocromatografía, ésta consiste en que sobre la membrana de nitrocelulosa, se encuentra adherido el antígeno que es específico para *Brucella*

canis, posteriormente se añade la muestra donde las inmunoglobulinas específicas de *Brucella canis* se une al antígeno adherido a la membrana de nitrocelulosa; sí en el test no se forma la línea indica un resultado negativo (Colman, Abente, Cristaldo & Martínez, 2017).

2.9.2 Diagnóstico directo

El cultivo bacteriológico de *Brucella* se suele conseguir por hemocultivo o cultivo de médula ósea y en raras ocasiones de líquido cefalorraquídeo o líquido articular. En los procesos agudos, de 2 a 4 días post incubación se van a encontrar colonias y una parte se encontrará en crecimiento de los 5 a 15 días, se han realizado estudios en donde pueden llegar a los 30 o 45 días (Baruta et al., 2000)

Examen microscópico, se observa el crecimiento con tinción de Gram y este permite hacer el diagnóstico presuntivo de *Brucella* spp, que presenta unas características de coloración especiales, por ejemplo, no sufre decoloración con ácidos débiles, si el tiempo de exposición al alcohol-acetona es muy breve se ve una decoloración anormal, en ésta se puede observar la existencia de cocobacilos gramnegativos y grampositivos (Baruta et al., 2000).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una prueba de alta sensibilidad que muestra la detección de ADN bacteriano mediante PCR en las muestras estudiadas (Baruta et al., 2000; Kim, Lee, Suzuki & Watarai, 2006). Se realizaron estudios donde se utilizó la prueba de PCR en muestras de tejido linfoide inguinal en perros. Su sensibilidad y especificidad diagnóstica fueron del 100% (Aras & Uçan, 2010; De Oliveira, Vale, Keid, Freire, Meyer, Portela & Barrouin-Melo, 2011).

2.10 Tratamiento.

2.10.1 Caninos.

El procedimiento en general es difícilmente exitoso y se recomienda sólo en aquellos animales que puedan ser monitoreados durante y después del tratamiento ya que es muy común la reaparición de la enfermedad después de terminado el tratamiento. Aún no se ha encontrado un antibiótico totalmente efectivo para la erradicación de *Brucella canis*, pero los que son usados principalmente son estreptomicina, doxiciclina y rifampicina. Debido al decaimiento después de la finalización del tratamiento se utilizan generalmente combinaciones antibióticas que incluyen doxiciclina con estreptomicina o rifampicina durante 6 semanas. Se ensayaron in vitro la eficacia de tetraciclinas, aminoglicósidos, fluoroquinolonas, rifampicina, macrólidos y sus combinaciones contra *Brucella canis* de las cuales tetraciclinas se mostró como antibióticos con menores concentraciones inhibitorias mínimas, las quinolonas tuvieron una buena respuesta, pero se observó resistencia a los macrólidos (Ardoino et al., 2006).

Se han realizado estudios para evaluar la eficacia de la enrofloxacin contra la brucelosis canina, doce perros infectados recibieron 5 mg/kg cada 12 horas durante 30 días. Se realizó seguimiento serológico durante 38 meses, a los 14 meses de iniciada la prueba todos los caninos dieron negativo a la prueba rápida de aglutinación en portaobjetos (RSAT). No se observaron abortos, al contrario las hembras concibieron y nacieron cachorros sanos (Wanke, Delpino & Baldi, 2006).

2.10.2 En Humanos.

Los tratamientos ensayados y que fueron exitosos incluyen el uso de vancomicina, gentamicina, ciprofloxacina, ceftriaxona, combinaciones de doxiciclina con estreptomicina o rifampicina siendo el tratamiento efectivo en humanos (Ardoino et al., 2006).

Las infecciones por *Brucella canis* en humanos están subdiagnosticadas debido a la falta de sospechas clínicas, la dificultad del aislamiento y la diferenciación de la especie. Las pruebas serológicas solo demuestran aglutinación de especies de superficie lisa (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*). *B. canis* y *B. ovis* son cepas de fase rugosa y no pueden identificarse por pruebas serológicas típicas (Javeri, Jamieson, Sehgal y Cadena, 2014; Marzetti, Carranza, Roncallo, Escobar y Lucero, 2013).

Capítulo 3. Objetivos

3.1 Objetivo General.

Analizar la información epidemiológica relacionada con la brucelosis canina (frecuencia, métodos diagnósticos y posibles factores de riesgo) en algunos centros veterinarios de la ciudad de Bogotá D.C., Colombia, durante los años 2016 a 2018.

3.2 Objetivos Específicos.

Analizar los casos clínicos diagnosticados como brucelosis canina en los centros veterinarios de la ciudad de Bogotá (localidad de Usaquén y la clínica veterinaria de la Universidad Antonio Nariño-Bogotá en Chapinero), del 2016 al 2018.

Identificar los métodos más comúnmente usados para el diagnóstico de la brucelosis canina en los centros veterinarios objetos de estudio.

Revisar posibles asociaciones entre la presentación de brucelosis canina y las diferentes variables analizadas (sexo, edad, estado reproductivo, raza y estrato socioeconómico de los propietarios).

Capítulo 4. Metodología

4.1 Tipo de Estudio.

Se llevó a cabo un estudio de tipo retrospectivo, con la finalidad de analizar los casos positivos de *Brucella canis* en los centros veterinarios objeto de estudio durante los años 2016 a 2018. Con respecto a los casos encontrados se revisaron y analizaron datos de los pacientes como sexo, edad, estado reproductivo, raza, estrato socioeconómico de los propietarios si estaba disponible; y se revisó cual fue el método diagnóstico usado por el centro veterinario tratante.

4.2 Zonas de Estudio.

Para la realización de este estudio, los investigadores se desplazaron a la localidad de Usaquén donde se eligieron 8 clínicas veterinarias y la clínica veterinaria de la universidad Antonio Nariño que se encuentra en la localidad de Chapinero. Estas zonas de Bogotá D.C se eligieron por su localización y porque se encuentran habitantes de diferentes estratos socioeconómicos, lo que puede llegar a enriquecer y dar énfasis de lo que realmente sucede en Bogotá (Fig.1).



Figura 1. Mapa de la localización de las diferentes localidades de la ciudad de Bogotá D.C. Imagen tomada de la Alcaldía mayor de Bogotá, secretaria general, 2013

4.3 Recolección de la Información Clínica.

En las clínicas incluidas en este estudio se solicitó la totalidad de casos diagnosticados y se entrevistó al personal pertinente acerca estos y los pacientes objeto de estudio. Se seleccionaron aquellos con diagnóstico clínico de brucelosis y se obtuvo la siguiente información:

- Datos del paciente (edad, sexo y el estado reproductivo) y de su responsable (estrato socioeconómico).
- Signología reportada
- El método de diagnóstico usado por el profesional adicional al diagnóstico clínico (Rosa de Bengala, inmunodifusión en gel de agar (AGID), hemocultivo, PCR, aglutinación rápida en placa con la cepa M (-) de *B. canis*, ELISA indirecto (complementario con un antígeno rugoso para *Brucella canis*), inmunofluorescencia e Inmunocromatografía.
- Si se llevó acabo necropsia.
- Se consideraron tanto los casos sospechosos como los confirmados.

- Se intentó ubicar el estrato socioeconómico al cual pertenecía la mascota.

4.4. Recolección de Información Paraclínica.

Se tuvo en cuenta los métodos que se utilizaron para el diagnóstico de la enfermedad.

Los métodos diagnósticos se determinaron según los reportes emitidos por los laboratorios donde cada clínica solicitó las pruebas.

4.5. Procesamiento de la Información.

Se calcularon frecuencias y porcentajes para las características o variables de los caninos (sexo, edad, estado reproductivo, raza y estrato socioeconómico) así como los métodos de diagnóstico utilizados y el número de casos reportados como positivos para brucelosis.

Para determinar posibles asociaciones se realizó un análisis mediante tablas de contingencia y cálculo de chi cuadrado (X^2), con un margen de riesgo del 0.05, buscando la asociación entre el diagnóstico clínico de brucelosis y las características o variables reportadas en las historias de los pacientes.

Capítulo 5. Resultados

5.1 Análisis de casos clínicos

En las 8 clínicas visitadas en la localidad de Usaqué se revisaron 9.030 historias en total de las cuales se hallaron 33 casos clínicos con signología compatible con brucelosis canina; adicionalmente, en la clínica de la Universidad Antonio Nariño se revisaron 1.230 historias en total siendo hallados 4 casos clínicos para un total de 37 casos desde el año 2016 hasta el 2018. Los caninos incluidos dentro de este estudio fueron reportados con signos clínicos como abortos y descargas vaginales de color anormal y con presencia de olor en las hembras, letargia, epididimitis y dermatitis escrotal en los machos. Lo reportado por los dueños de las mascotas fue una incapacidad de concebir o quedar en gestación.

Del total de caninos analizados el 59.5% (n=22) se diagnosticaron positivos para brucelosis canina mediante alguna prueba diagnóstica y un 5.4% (n=2) resultaron negativos, el 35.1% (n=13) fueron sospechosos por examen clínico, pero no pudieron ser confirmados. El 56.8% (n=21) fueron hembras de las cuales el 52.4% resultaron positivas a la enfermedad (n=11) y dos hembras confirmada como negativas, las demás fueron sospechosas (n=8); el 43.2% (n=16) fueron machos de los cuales el 68.8% (n=11) fueron positivos y los demás sospechosos (n=5) (Tabla 2; Fig. 2).

Tabla 2. Número de casos y frecuencia de brucelosis por sexo en los caninos objeto de estudio

	Positivos	Negativos	Sospechosos	Total de casos	Frecuencia de caninos por sexo
Sexo					
Hembras	11	2	8	21	56.8%
Machos	11		5	16	43.2%
Total de casos	22	2	13	37	
Frecuencia de enfermedad	59.5%	5.4%	35.1%		

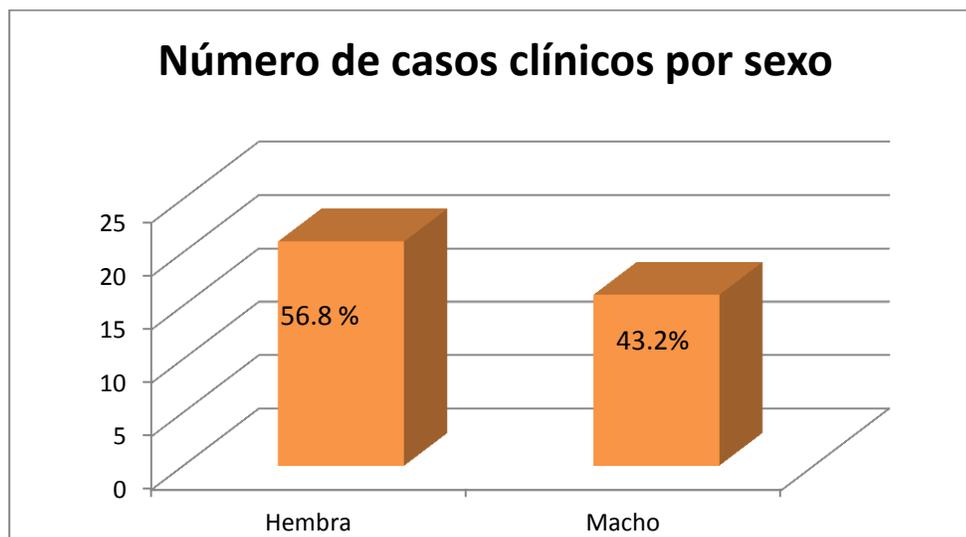


Figura 2. Número de casos clínicos por sexo en la población.

Las razas más frecuentemente afectadas fueron Beagle con 5 casos (13.5%) 2 de los cuales fueron positivos y 3 sospechosos; Criollo con 9 casos (24.3%) de los cuales 5 fueron positivos, 1 negativo y 3 sospechosos; Golden Retriever con 5 casos (13.5%) 3 de los cuales fueron positivos y 2 sospechosos; Schnauzer con 4 casos (10.8%) 3 de los cuales fueron positivos y uno sospechoso; Pastor Alemán con 4 casos (10.8%) de los cuales 3 fueron positivos y uno sospechoso; se revisaron 3 casos de la raza Pitbull (1 positivo) y 3 de la raza Poodle (2 positivos) (8.1% cada uno) (Fig.3, Tabla 3). El resto de razas incluidas en la revisión fueron el Pug (negativo), Weimaraner, Rottweiler y Border Collie, cada uno presentándose con un único caso clínico cada uno positivo (Fig. 3).

Tabla 3. Frecuencia de brucelosis por raza en los caninos objeto de estudio.

Razas				Total de	Frecuencia
	Positivos	Negativos	Sospechosos	casos	
Beagle	2		3	5	13.5%
Criollo	5	1	3	9	24.3%
Golden retriever	3		2	5	13.5%
Schnauzer	3		1	4	10.8%
Pastor Alemán	3		1	4	10.8%
Pitbull	1		2	3	8.1%
Poodle	2		1	3	8.1%
Pug		1		1	2.7%
Weimaraner	1			1	2.7%
Border collie	1			1	2.7%
Rottweiler	1			1	2.7%
Total de casos	22	2	13	37	
Frecuencia	59.5%	5.4%	35.1%		



Figura 3. Número de casos clínicos por raza en la población.

Las edades de los caninos analizados fueron variadas entre 2 años y hasta 7 años de edad, ocurriendo mayor número de casos a los 4 años y 3 años de edad presentándose 10 y 9 caninos y una frecuencia de 27% y 24.3% respectivamente (Fig. 4, Tabla 4).

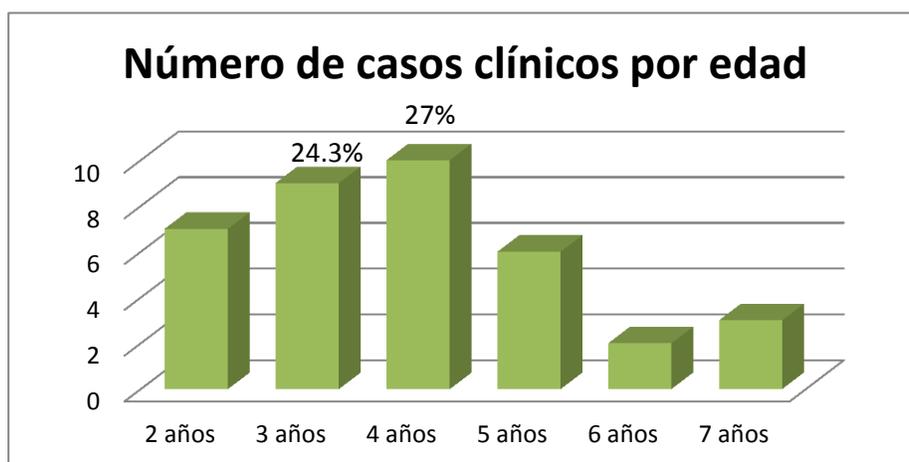


Figura 4. Número de casos clínicos por edad en la población canina estudiada

Tabla 4. Frecuencia de brucelosis por edad.

Edad				Total de	Frecuencia
	Positivos	Negativos	Sospechosos	casos	
2 años	4		3	7	18.9%
3 años	6	1	2	9	24.3%
4 años	5	1	4	10	27.0%
5 años	2		4	6	16.2%
6 años	2			2	5.4%
7 años	3			3	8.1%
Total de casos	22	2	13	37	
Frecuencia	59.4%	5.4%	35.1%		

De los casos analizados el 86.4% fueron animales enteros, y el 13.5% animales que fueron esterilizados o castrados con 32 y 5 casos en total respectivamente. El total de enteros positivos fue de 19 animales en total y de castrados o esterilizados de 3 animales (Fig. 5, Tabla 5).



Figura 5. Número de casos clínicos por estado reproductivo en la población canina estudiada

Tabla 5. Número de casos y frecuencia de brucelosis por estado reproductivo.

Estado reproductivo		Positivos	Negativos	Sospechosos	Total de casos	Frecuencia
		Esterilizado/castrado	3	1	1	32
	Entero	19	1	12	5	13.5%
	Total de casos	22	2	13	37	
	Frecuencia	59.4%	5.4%	35.1%		

Se halló que el 72.9% de los casos analizados (n=27) los propietarios pertenecían a un estrato socioeconómico 3, el 16.2% (n=6) de los caninos sus propietarios eran de estrato 4 y 10.8% (n=4) pertenecían al estrato 2. La mayoría de casos positivos fueron de animales de núcleos familiares pertenecientes al estrato 3 (n=17) (Fig. 6, Tabla 6).

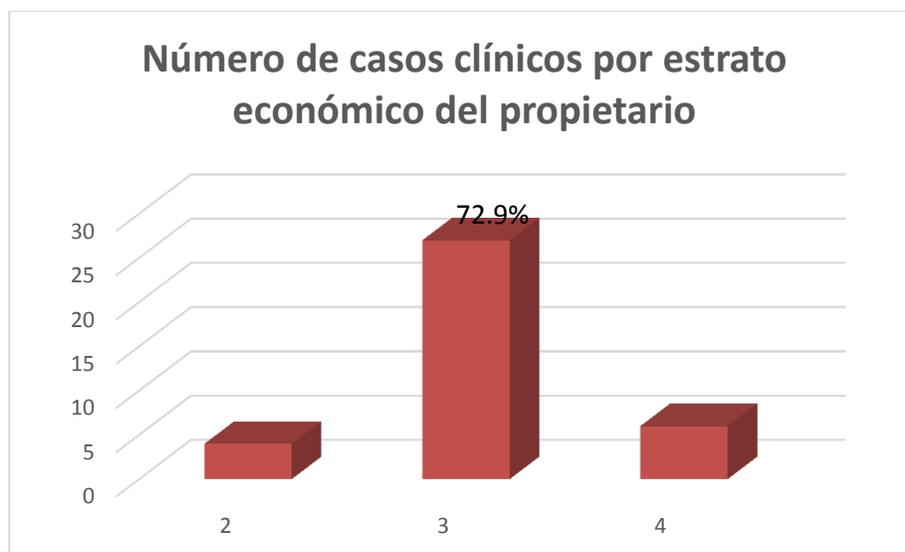


Figura 6. Número de casos clínicos por estrato socioeconómico del propietario.

Tabla 6. Número de casos y frecuencia de brucelosis por estrato económico del propietario de los caninos objetos de estudio

Estrato económico		Positivos	Negativos	Sospechosos	Total de	
					casos	Frecuencia
	Estrato 2	2		2	4	10.8%
	Estrato 3	17	2	8	27	72.9%
	Estrato 4	3		3	6	16.2%
	Total de casos	22	2	13	37	
	Frecuencia	59,4%	5.4%	35.1%		

5.2 Identificación de los métodos más comúnmente usados para el diagnóstico de la brucelosis canina

Los métodos de diagnóstico más utilizados fueron ELISA en 16 de los casos clínicos (43.2%), Inmunofluorescencia en 6 casos clínicos (16.1%) e Inmunocromatografía en 2 casos clínicos (5.4%) (Tabla 7).

Tabla 7. Métodos diagnósticos utilizados en los centros clínicos objeto de estudio.

	Positivos	Negativos	Sospechosos	Total de casos	Frecuencia
Signos clínicos			13	13	35.1%
IF	6			6	16.1%
Elisa	15	1		16	43.2%
IC	1	1		2	5.4%
Total casos	22	2	13	37	
Frecuencia	59.5%	5.4%	35.1%		

IF: inmunofluorescencia; IC: inmunocromatografía

5.3 Determinación de posibles asociaciones entre brucelosis canina y las variables

analizadas

Mediante las tablas de contingencia no se logró hacer asociaciones entre las diferentes variables (sexo, edad, raza, estado reproductivo y estrato socioeconómico) y la presentación de la brucelosis canina, ya que el número de casos negativos fue demasiado bajo. Por lo anterior intentando aumentar dicho número se tomaron los sospechosos como negativos y se intentó realizar prueba de Fisher y correlación de Spearman. En el primer caso no hubo asociaciones significativas y en el segundo las correlaciones fueron demasiado bajas:

Estrato socioeconómico: 0,037

Estado reproductivo: -0,2

Sexo: -0,02

Edad: -0,06

Capítulo 6. Discusión

En el presente estudio se describe la base epidemiológica de la población canina de algunos centros veterinarios de la ciudad de Bogotá junto con la sospecha de brucelosis canina diagnosticada por métodos diagnósticos cuando esto es posible o por examen clínico. Lo anterior aporta elementos que permiten una aproximación de la situación de esta enfermedad canina en la ciudad.

Se evidencia en este estudio que más de la mitad de las hembras fueron positivas a la enfermedad (52.4%) así como la población estudiada involucro en su mayoría a este sexo. Sin embargo, aunque la población de machos estudiados fue menor (n=16) el 68.8% resulto positivo a la enfermedad. En un estudio más amplio en Envigado (Antioquia) el cual constaba de 54 caninos, 10 machos y 44 hembras, se encontró que el 40% de los machos (n=4) y el 82% (n=36) de las hembras fueron positivas para *B. canis* (Agudelo, Molina, Arias y Madrigal, 2014). Esto sugiere que las hembras serían más susceptibles a la brucelosis canina con relación a los machos.

Al igual que otros estudios de prevalencia de *B. canis*, no fue posible encontrar una asociación en la raza, ya que esta depende del país y continente donde se realiza el estudio porque se relaciona estrechamente con la popularidad de ciertas razas con respecto a la población (Shin & Carmichael, 1999); no obstante, entre las 11 razas analizadas se halló una frecuencia de seropositividad importante en 5 razas de mascotas a nivel local, donde la mayoría de los casos se reportaron en Criollo, Beagle, Pastor Alemán, Schnauzer y Golden Retriever.

Los perros pueden infectarse en cualquier etapa de su vida, aunque existe una mayor predisposición en perros jóvenes, ya que en éstos ocurre una mayor actividad reproductiva, mayores de seis meses o de un año, lo cual va aumentando con la edad, ya que esta enfermedad se

transmite principalmente por vía sexual (Troncoso, Rojas, Fisher, Núñez y Arrué, 2013); en este estudio se mostró un aumento de casos positivos en animales de 3 y 4 años de edad, demostrando que los caninos en estado reproductivo activo son más propensos a adquirir la enfermedad.

Con respecto al estado reproductivo de las mascotas, dado que el 86% de ellas estaban esterilizadas al momento de la evaluación clínica, se presume que aquellos animales positivos adquirieron la infección mucho antes de ser sometidos al proceso quirúrgico. Esta situación debe considerarse con precaución dado el carácter zoonótico de esta entidad, es decir, que la población humana, especialmente los propietarios podrían estar en riesgo de infectarse. La tenencia de caninos infectados ha sido reportada como un riesgo a la salud pública, hallándose alrededor de 40 casos de brucelosis canina entre 1966 y 2011 en diferentes lugares del mundo (Briseño et al., 2004). Sin embargo, en este estudio no se evaluó la convivencia con caninos seropositivos como un factor de riesgo. Aunque se analizó el estrato socioeconómico de los propietarios y la mayoría pertenecían a estratos 3 y 4, y menos al estrato 2. Evaluar esta variable nos permite identificar la población que se encuentra más afectada y con esto se proporcionan bases para una mejor comprensión en cómo se relacionan la dimensión social y las condiciones de salud.

El carácter zoonótico de la enfermedad en seres humanos se ha descrito desde 1975, desde 2005 se han venido diagnosticando casos humanos en países como Argentina y en 2010 se reportó por primera vez en una persona con VIH en la ciudad de Medellín; se puede considerar al patógeno como causa de enfermedad con alto riesgo para las personas que se ocupan de cuidar, criar caninos o que trabajan estrechamente con animales infectados (Agudelo et al., 2012).

El diagnóstico serológico es difícil debido a la inestabilidad de los anticuerpos séricos que varían dependiendo de la fase de la enfermedad, aguda o crónica; un cultivo negativo no se puede utilizar para excluir la presencia de la bacteria, ya que esta se elimina de forma

intermitente (Agudelo et al, 2012). Teniendo en cuenta esta afirmación, este estudio incluyo también los casos sospechosos de acuerdo al examen clínico, aunque estos no hubieran podido ser confirmados por alguna prueba serológica. De los 37 casos analizados más de la mitad fue confirmada por alguna prueba (ELISA, inmunofluorescencia o inmunocromatografía) y solo dos casos resultaron negativos. El 35% de los casos no fueron sometidos a pruebas confirmatorias, pero es de suponer que de haber sucedido la frecuencia de casos positivos habría sido mayor.

Otra de las pruebas de referencia por la OIE (Organización Mundial de la Sanidad Animal) es la fijación del complemento, siendo esta prueba más sensible porque da menos reacciones inespecíficas y 100% hemólisis (Acosta & Ortiz, 2014). Esta última característica es ideal para la detección y cuantificación de anticuerpos presentes en suero sanguíneo convirtiéndola en una prueba confirmatoria, que detecta IgG1 y algunas IgM (Rueda, 2010); teniendo en cuenta que es una prueba confirmatoria al igual que la prueba de Coombs o seroaglutinación, ésta es poco usada en el diagnóstico de *Brucella canis* ya que primero debe ser realizada por personal capacitado, presenta una mayor complejidad en la técnica y no aporta nada diferente a otros métodos.

Capítulo 7. Conclusiones

Se evidencio la presencia de *Brucella canis* en los centros veterinarios de la localidad de Usaquén y la clínica veterinaria de la Universidad Antonio Nariño desde el 2016 al 2018, en las cuales se encontraron 37 casos clínicos.

Al relacionar el factor raza, se determinó que los caninos más afectados pertenecen a razas como Beagle, Criollo, Schnauzer, Pastor Alemán y Golden Retriever, sin embargo, este tipo de razas son las más seleccionadas por las familias colombianas durante la época incluida en el estudio.

Los animales más afectados son los que se encontraban en estado reproductivo activo, caninos sin castrar o esterilizados. Al relacionar el factor sexo y edad, la mayor seropositividad fue en hembras y en rangos etarios entre 3 y 4 años.

Al relacionar el factor del estrato socioeconómico al que pertenece el propietario, se evidencio que la mayoría de los caninos afectados son pertenecientes a núcleos familiares de estrato 3, sin embargo, este factor no llega a ser significativo ya que la mayoría de las familias Colombianas pertenecen a este estrato.

Se evidencio que los métodos diagnósticos más utilizados en los centros veterinarios de la localidad de Usaquén y la clínica de la Universidad Antonio Nariño de la ciudad de Bogotá D.C son el ELISA, la Inmunofluorescencia e Inmunocromatografía junto a un excelente examen clínico.

No fue posible establecer asociaciones entre el diagnóstico de la enfermedad y las variables analizadas probablemente debido al número limitado de casos clínicos.

Capítulo 8. Referencias

1. Acosta, M. & Ortiz, M. (2014). Pruebas diagnósticas en Brucelosis Bovina. Facultad de medicina Veterinaria – U.N.M.S.M. Lima – Perú.
2. Agudelo, P., Castro, B., Rojo, R. & Henao, S. (2012). Seroprevalencia y factores de riesgo para brucelosis canina en perros domésticos de once comunas de la ciudad de Medellín-Colombia. Rev. salud pública. 14 (4): 644-656.
3. Agudelo, P., Molina, M., Arias, V. & Madrigal, E. (2014). Canine brucellosis serological study in two shelters of the municipality of envigado, colombia (2011). Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 61(2): 134.
4. Alton, G., Lois, M. & Pietz, E. (1976). Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis. Organización Mundial de la Salud. Vol. 2.
5. Aras, Z. & Uçan, U. (2010). Detection of *Brucella canis* from inguinal lymph nodes of naturally infected dogs by PCR. Theriogenology, 74(4), 658-662.
6. Ardoino, S., Baruta, D. & Toso, R.E. (2006). Brucelosis canina. Ciencia Veterinaria, 8: 50-61.
7. Baruta, D.A., Ardoino, S.M., Riesco, S.R. & Marengo, M.L. (2000). Evaluación de un método serológico para la detección de anticuerpos contra *Brucella Canis*. Enfermedades infecciosas. Fac. Cs. Veterinarias. UNLPam. Química biológica. Fac. Cs. Veterinarias. UNLPam, 62-65.
8. Borie, C. & Pinochet, L. (1987). Brucelosis canina: Conceptos generales y estudios realizados en el país. Monografías Med. Vet., 9 (2): 70-78.

9. Briseño, H., Páramo, R., Flores, R. & Suárez, F. (2004). Problemas reproductivos en perros infectados con *Brucella canis*. Vet. Mex., 35 (2): 121-128.
10. Brown, J., Blue, J., Wooley, R., Dreesen, D. & Carmichael, L. (1976). A sérologie survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and evaluation of slide agglutination test. J Am Vet Med Assoc 169(11): 1214 - 1216.
11. Castillo, V., Cetrino, C. & Moreno (2002). Encuesta serológica sobre *Brucella canis* en pacientes atendidos en la clínica de pequeños animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia (Sede Bogotá). Arch Med Vet; 13:22-5.
12. Castrillón, L., Giraldo, C., Sánchez, M. & Olivera, M. (2013). Factores asociados con la seropositividad a *Brucella canis* en criaderos caninos de dos regiones de Antioquia, Colombia. Grupo de Investigación VERICEL, Universidad de Antioquia. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 29(10):1975-1987.
13. Castro, H.A., González, S.R. & Prat, M.I. (2005). Brucellosis: una revisión práctica. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 2005; 39(2), 203-216.
14. Colman, G., Abente, A., Cristaldo, L. & Martínez, B. (2017). Seroprevalencia de brucelosis canina (*Brucella canis*) en la Ciudad de Concepción – Paraguay. Vol. 7. N° 1
15. De Oliveira, M., Vale, V., Keid, L., Freire, S., Meyer, R., Portela, R. & Barrouin-Melo, S. (2011). Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. Research in Veterinary Science, 90(3), 425-431.
16. Freer, E. & Castro-Arce, R. (2001). *Brucella*: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 2001; 22(1,2):73-82.

17. Galphin, S.P. (1977). A sérologie survey for *Brucella canis* in dogs on a military base. J Am Vet Med Assoc. 8: 728 - 729.
18. Giraldo, C., Ruiz-Cortés, Z. & Olivera, M. (2009). *Brucella canis* en Medellín (Colombia), un problema actual. Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica 2009; 12(1): 51-57
19. Jara, S., Pérez, OD., Di-Lorenzo, C. & Olivera, M (2005). Diagnóstico de brucelosis canina mediante aglutinación en placa en caninos de Medellín, Colombia. Rev Colomb Cienc Pecu; 18:4.
20. Javeri, H., Jamieson, S., Sehgal, R. & Cadena, J. (2014). *Brucella canis* peritonitis. Infection, 42(1): 195-197.
21. Kim, S., Lee, D., Suzuki, H. & Watarai, M. (2006). Detection of *Brucella canis* and *Leptospira interrogans* in canine semen by multiplex nested PCR. J. Vet. Med. Sci. 68 (6): 615-616.
22. Lértora, W., Sánchez, M., Montenegro, M. & Villordo, G. (2012). Hallazgos anatomopatológicos en fetos y neonatos bovinos del nordeste argentino. Rev. vet. 23(2): 126- 129.
23. Maia, G.R., Rossi, C., Abbadi, F., Vieira, D. & Moraes, I. (1999). Prevalencia da brucelose canina ñas cidades do Rio de Janeiro e Niteroi-RJ. Rev Bras Reprod 23: 425 - 427.
24. Marzetti, S., Carranza, C., Roncallo, M., Escobar, G., Lucero, N. (2013). Recent trends in human *Brucella canis* infection. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 36(1), 55-61.

25. Méndez, I.A., Trujillo, D.M., Duque, C.C., Acero, E.J., Cabrera, L.A. & Pachón D.P. (2013). Seroprevalencia de *Brucella* spp en estudiantes de Medicina Veterinaria, Bogotá Colombia. Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud. 45 (2): 39-48
26. Ministerio de salud y protección social. Organización panamericana de la Salud. (2012). Piloto para estimación de dinámicas poblacionales de perros y gatos. Convenio Cooperación técnica 485/10: 8-22.
27. Oliveira, M., Freire, S., Meyer, R., Keid, L., Barrouin-Melo, S. & Paulo, P. (2009). Efficiency of an indirect ELISA using two antigen preparations of *Brucella canis* for immunodiagnosis. Veterinary Immunology and Immunopathology, 128(1-3), 237.
28. Olivera, M. & Di-Lorenzo, C. (2009). Aislamiento de *Brucella canis* en un humano conviviente con caninos infectados. Informe de un caso. Colombia Médica 40(2): 218-220
29. Pardo, A., Pérez, C., Góngora, A., Gómez, L. & Moreno, A. (2009). Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio – Colombia. Universidad de los Llanos, Escuela de Ciencias Animales, Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal - GIRGA. Villavicencio, Colombia. Rev.MVZ Córdoba 14(2): 1690-1696.
30. Pillai, T., Nedunchelligan, S. & Raghavan, N. (1991). Serological and bacteriological detection de *Brucella canis* infections of dogs in Madras. Indian Vet J 68: 399-401.
31. Pretzer, S. (2008). Bacterial and protozoal causes of pregnancy loss in the bitch and queen. *Theriogenology*, 70(3): 320-326.
32. Ramírez, H., Calle, S., Echevarría, L. & Morales, S. (2006). Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la Provincia Constitucional del Callao. Rev Inv Vet Perú 2006; 17(1):39-43.

33. Rueda, E., (2010). *Brucella*. ICA (instituto Colombiano Agropecuario)
34. Shin, S.J. & Carmichael, L. (1999). Brucelosis canina causada por *Brucella canis*. Diagnostic Laboratory and Baker Institute for Animal Health, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York, USA. Di-Lorenzo, C. y Gobello, C. (Ed.). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
35. Smith, G. & Dobson, A. (1992). Sexually transmitted diseases in animals. Elsevier B.V, 8(5): 159-166.
36. Srinivasan, V., Nedunchelliyan, S. & Venkataraman, K. (1992). Seroepidemiology of canine brucellosis in Madras city. Indian VetJ 69: 978-980.
37. Thiermann, A. (1980). Brucellosis in stray dogs in Detroit. J Am Vet Med Assoc 177(12): 1216-1217.
38. Troncoso, I., Rojas, R., Fisher, C., Núñez, C. & Arrué, K. (2013). Brucelosis en criaderos caninos: seroprevalencia de 33 casos. Hospitales veterinarios 5(2): 50-55.
39. Ulloa, OE. & Hernández, LG (1978). Estudio serológico de *Brucella canis* y *Brucella abortus* en caninos y humanos en el área urbana de la ciudad de Bogotá. [Trabajo de grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.
40. Wanke, M. (2004). Canine brucellosis. *Animal Reproduction Science*. 82: 195-207.
41. Wanke, M., Delpino, M., & Baldi, P. (2006). Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel (clinical trial). *Theriogenology*, 66(6): 1573-1578.
42. Xolalpa, C. V., Pérez, M. & Soto, C. R. (2003). Asociación de la prevalencia de brucelosis con eventos de falla reproductiva e indicadores de eficiencia productiva y reproductiva. *Revista De Salud Animal* 25(3): 196-200.