

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ESTUDIO SOBRE LA POSIBLE INCIDENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN UNA POBLACION DE PERROS CALLEJEROS CAPTURADOS POR EL CENTRO ANTIRRABICO MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE GUADALAJARA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ROBERTO BARCELO DE LA ISLA

GUADALAJARA, JAL. 1984

DEDICATORIAS

A QUIENES ME BRINDARON
SUS CONOCIMIENTOS Y
APOYO. MIS MAESTROS.

A QUIENES LOGRARON LLEVAR-
ME POR EL BUEN CAMINO.
MIS PADRES.

A MIS AMIGOS DE SIEMPRE.
MIS HERMANOS.

AL M.V.Z. AMILCAR GONZALEZ
DE COSIO, POR LAS FACILIDA-
DES BRINDADAS AL DESARROLLO
DEL PRESENTE TRABAJO.

AL M.V.Z. ENRIQUE LOPEZ
PASARON POR SU ASESORIA
EN MI TESIS.

A MI ESPOSA GEORGINA Y A MI
HIJA ERIKA. POR SU CARINO Y
COMPRESION.

I N D I C E

	PAGS.
INTRODUCCION.	1
OBJETIVO.	9
MATERIAL Y METODOS.	10
RESULTADOS.	13
DISCUSION.	14
CONCLUSIONES.	15
BIBLIOGRAFIA	16

I N T R O D U C C I O N

La brucelosis canina se atribuye generalmente a *Bruce -*
lla Canis. Esta bacteria fué reconocida hace 15 años por -
Carmichael, que logró su aislamiento e identificación al ha-
cerse manifiesta en una colonia de Beagles donde las perras
presentaron problemas de aborto, por aquella fecha la enfer-
medad había sido diagnosticada en otras razas (5) y su apa-
rición a sido objeto de estudios posteriores.

Actualmente se encuentra identificada en otros países -
como Japón, México, Alemania, Brasil, Tunez, Checoslovaquia
y recientemente en Argentina. (6).

Aunque la enfermedad estaba distribuida en los E.U. se-
reportó la prevalencia con rangos aproximadamente del 1 al-
6% dependiendo de la región muestreada y el tipo de prueba-
diagnostica utilizada, esta prevalencia se hace manifiesta-
en mayor potencia donde los perros no estan controlados, es
decir, canideos carentes de propietario y ausentes de aten-
ción Médico Veterinaria (7). Por ejemplo estudios recientes
en México revelaron un índice superior al 10% basándose en-
los resultados del hemocultivo (10).

En la actualidad y recientemente se cuenta con una prue-
ba de aglutinación rápida en placa con diagnóstico presunti-
vo de esta enfermedad, resulta realmente simple sin embargo
la aparición de aglutinaciones no específicas cuando se ti-
ñen con el antígeno elaborado por los laboratorios Pitman-
Moore, en que se mezcla el suero del paciente, no significa
que sea poco efectiva la prueba, dada su especificidad.(14)

Nos permite analizar que pruebas subsecuentes deberán -

ser realizadas para el diagnóstico definitivo de esta infección bacteriana teniendo así la necesidad de utilizar la asistencia del Laboratorio de Microbiología utilizando el hemocultivo en medios específicos para esta bacteria (18, - 19).

Un conocimiento básico sobre la naturaleza general de la brucelosis y naturaleza insidiosa de la enfermedad en los canideos especialmente en hembras no preñadas y machos aparentemente normales es importante y necesario ya que cada caso merece un estudio extensivo para encontrar los procedimientos fundamentales acerca de la interacción huésped brucella aún permanecen sin contestar. (14).

Los signos clínicos que se presentan en las perras infectadas incluyen el aborto después de los treinta días de la gestación, más comunmente entre los días 45 y 55 de la misma. Ocasionalmente las camadas pueden nacer con vida y algunos cachorros muertos, también son frecuentes las muertes embrionarias en etapas tempranas de la gestación y que al término de este período pueden aparecer, lo cual sugiere al propietario que la perra tuvo fallas en la concepción. Existe crecimiento de los ganglios linfáticos en forma generalizada principalmente debido a hiperplasia celular, común en ambos sexos (16).

Brucella canis, puede ser aislada rápidamente de la sangre o descargas vaginales de los animales infectados como también del tejido fetal y placentario.(5.1).

La bacteremia prolongada ocurre hasta más de dos años y es un cuadro notable de esta enfermedad canina.(2).

Después de varios meses de la infección la bacteremia pueden ser intermitente.(2).

Un aspecto importante de esta enfermedad en los machos es la infertilidad entre la segunda y quinta semana después de la infección, la aparición de espermatozoides anormales varía del 30 al 80% con colas cortas o ausentes, la porción media de la cola aumentada de tamaño y presencia de gotas protoplasmicas distales después de las 20 semanas de infección por vía oral. Más de 90% del espermatozoides se encuentra anormal y con notable reducción de la motilidad. Los neutrofilos y monocitos son comunes en el eyaculado y su observación al microscopio nos permite detectar a estos adheridos a las cabezas, también se hacen manifiestas las aglutinaciones de cabezas con cabeza (6).

La presencia de espermaglutininas han sido encontradas en muestra de suero y líquido seminal de los machos infectados.(6).

Las brucellas en todas las especies pueden ser obtenidas en abundancia del eyaculado durante el segundo mes después de la infección, sin embargo un número de estos organismos disminuye después de este tiempo. También han sido encontrados en machos después de las setenta semanas de infección.(16).

Es importante tener presente estos datos porque muchos animales infectados pueden parecer normales y tener bacteremia recurrente, también puede no existir la hipertermia.(16).

La glándula prostática es una abundante fuente de estos organismos. En los machos puede ocurrir la presencia de epididimitis y orquitis seguida en ocasiones por atrofia -

testicular, común en esta enfermedad. (16).

Las aglutininas aparecen en el suero aproximadamente - después de tres semanas subsecuentes a la infección oral y persisten a títulos elevados. Los animales recuperados resultan inmunes a la reinfección. (16).

BRUCELLA CANIS

El agente causal de la Brucellosis canina es la bacteria *Brucella Canis*. Esta, es una bacteria pequeña de 0.5 a 0.7 micras, gram-negativa, posee forma cocoide en cultivos jóvenes y al hacer cultivos de éstos, se tornan de forma cobacilar (7). Mediante la observación al microscopio las encontramos por lo general en forma aislada o en grupos y - muy raramente en racimos, es móvil y no forma esporas. La *Brucella* en tejido necrótico de fetos o placenta son capaces de vivir durante seis meses, mientras que en el suelo - en ambiente seco y protegido de la luz solar resisten de 2 a 3 meses en bajas temperaturas; agua, leche, orina y otras secreciones le permiten vivir de 2 a 3 años. La *Brucellas* mueren fácilmente por la acción de la pasteurización. La de sinfección puede hacerse con fenol, formaldehído compuestos cuaternarios de amonio o con sosa, obteniendo resultados fa vorables. Se han reportado 2 tipos de cepas la rugosa y la lisa, dentro del género de la *brucellas*. (15).

CARACTERISTICAS DE CULTIVO

Como característica para el cultivo la bacteria puede - ser obtenida de tejidos fetal y placentario, del eyaculado de los animales infectados durante 1 ó 2 meses siguientes a la infección y de la glándula prostática; en la sangre se - puede obtener porque se presenta bacteremia intermitente -

que puede durar 3 años (5,1).

El crecimiento de *B. Canis* es muy similar al de *B. Suis* biotipo 3 (2,15).

Crece a una temperatura de 37°C, es aeróbico, no requiere CO₂, el PH óptimo de crecimiento es de 6.5 a 7.4 son organismos que por sus características particulares se desarrollan bien en los siguientes medios. Agar triptosa, agar-brucella, y agar soya tripticasa (4).

Produce colonias cuyo tamaño varía entre 1 y 1.5 mm. de diámetro, son de color blanco grisáceo en medio sólido y con cierta turbidez y sedimento en el caldo triptosa o caldo brucella en donde los cultivos forman un compuesto mucoso, el período de incubación oscila entre 36 y 48 horas. (8).

PRUEBAS QUIMICAS

El crecimiento de *B. Canis* es inhibido por la fucsina básica en concentraciones similares como se muestra en la tabla No. 1. En esta se presenta además las diferentes propiedades bioquímicas del germen.

Como prueba bioquímica oxidativa actúa sobre los substratos D-ribosa, D-glucosa, L-arginina y L-lisina (1).

PROPIEDADES ANTIGENICAS

Esta bacteria produce reacciones antigénicas similares a las producidas por las cepas rugosas de *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. ovis*. (9).

El germen por estar en fase rugosa carece de antígeno polisacárido, el cual confiere la capacidad aglutinígena ca

-racterística de la brucela en fase lisa. Sin embargo posee antígenos rugosos "R" muy parecidos a los que se detectan en B. ovis. por lo anterior se comprende que los antígenos - que se emplean para el diagnóstico de brucelosis causadas por cepas con B. abortus y B. melitensis. no permiten diagnosticar la infección por B. canis. En contraste los antígenos preparados con cepas rugosas como B. ovis. y B. abortus.45/20, identifican con facilidad anticuerpos producidos ante la infección por B. canis.

Actualmente se emplea con fines diagnósticos la prueba de aglutinación en placa en la que el antígeno es preparado con B. ovis y B. abortus. (9).

TABLA No. 1
CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE BRUCELLA CANIS

Fermentación de carbohidratos.	Negativo
Citrato	Negativo
Ureasa	Positivo (++++)
Catalasa	Positivo (++++)
H ₂ S (medio de triptosa - 1 semana.)	Positivo (+)
Oxidasa	Positivo (+)
Nitrato	No significativo
MR - VP	Negativo
Licuefacción de la gelatina.	Negativo
Crecimiento de medio de Mc.Conkey.	Negativo
Crecimiento en medio de fucsina básica 1:50,000	Negativo (--)
1:100,000	Positivo (+++)
Crecimiento en medio de tinonina 1:50,000	Negativo (++)
1:100,000	Positivo (+++)
Leche tornasolada (1 semana).	Ligeramente Alcalina.

Las Brucellas son altamente susceptibles a la acción - de las Sulfas y antibióticos in-vitro la diferencia in-vivo e in-vitro consiste en la capacidad de las brucellas in-vi-vo de sobrevivir en el interior de las células, en las cua - les el nivel de antibióticos es bajo (13).

O B J E T I V O

En base a los antecedentes mencionados en este mismo trabajo sobre la brucellosis canina. El objetivo es de conocer la incidencia y el posible aislamiento de la bacteria BRUCELLA CANIS por métodos serológicos y bacteriológicos en un lote de 500 canideos capturados por el Centro Antirrábico Municipal, siendo este un trabajo complementario de otro anterior (17). Este trabajo se realizó en perros remitidos a diversas clínicas veterinarias particulares de la ciudad de Guadalajara.

Ambos trabajos cubren el mismo objetivo de demostrar la existencia y prevalencia de Brucella Canis a nivel de perros que tengan propietario, cuidados adecuados y chequeos ocasionales y perros callejeros sin ningún cuidado como lo es el caso del presente trabajo.

Dando a conocer en esta forma al Médico Veterinario dedicado a la clínica de pequeñas especies la posibilidad de adquirir esta zoonosis cuando se manejan los animales sin los métodos de protección adecuada.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO.

- 1.- 500 perros de las siguientes edades y sexos:

a).- De 3 a 6 meses hembras	24
b).- De 3 a 6 meses machos	21
c).- De 7 meses a 1 año ---- hembras	158
d).- De 7 meses a 1 año ---- machos	112
e).- Mayores de 1 año ----- hembras	93
f).- Mayores de 1 año ----- machos	92
g).- Número total de hembras	275
h).- Número total de machos	225

2.- Antígenos febriles HUDDLESON

Laboratorios BIOCLIN

Frascos de 5 ml. Reg. No. 87931 D.S.S.A.

MATERIAL DE LABORATORIO.

- 1.- Placa de vidrio 20 x 30 cms. para reacciones febriles técnica de HUDDLESON.
- 2.- 40 pipetas de Kahm graduadas en 0.01 ml.
- 3.- 500 aplicadores de madera desechables de 7 cms.
- 4.- 100 jeringas de 5 cm³. con aguja calibre 20 x 32mm (¼").
- 5.- 40 tubos de cristal de 10 x 16 mililitros.
- 6.- Rejillas para el manejo de los tubos de ensayo.
- 7.- 1 centrífuga.
- 8.- Alcohol de caña de 96°
- 9.- 1 paquete de algodón.
- 10.- Tijeras
- 11.- Un refrigerador para conservación de muestras y los antígenos utilizados.
- 12.- Una lámpara pequeña para observación de muestras.

M E T O D O

Se analizaron 500 sueros provenientes de perros capturados por el Centro Antirrábico Municipal de la ciudad de Guadalajara, para la determinación en placa de reacciones febriles por método de Huddlesson, buscando encontrar la bacteria *Brucella Canis* causante de la enfermedad Brucellosis Canina.

Se tomaron muestras de 5 cc. de sangre por perro analizado por punción venosa, en la vena radial sin anticuagulantes para la obtención de suero no hemolizado.

Dichas muestras fueron puestas en tubos de ensayo y llevadas a centrifugación a 1500 R.P.M. y por 10 minutos buscando la separación del suero. Una vez que se separaron el suero y el plasma, se tomó con una pipeta 0.04 ml. del suero del animal y se colocó en una placa de vidrio, para reacciones febriles de Huddlesson; esta muestra se le agregó una gota de antígeno purificado, esta gota equivale a la misma cantidad de suero aplicado anteriormente.

Se mezclaron las gotas con un aplicador desechable diferente en cada muestra y se observaron a través de una lámpara, la cual nos permitiría ver la reacción de aglutinación si el caso fuera positivo y de no aglutinación si el caso fuera negativo.

Las edades variaban de 3 meses aproximadamente hasta animales de varios años de edad.

Ya que la Brucellosis es significativa en todas las edades, se muestrearon todos los animales que llegaron al Centro Antirrábico Municipal, el cual cuenta con las instalaciones de un laboratorio con equipos básicos el cual fué facilitado para trabajar las muestras tomadas inmediatamente sin tener riesgo de manejar y transportar en exceso la sangre, que pudiera ser causa de alteraciones en las pruebas y variantes en los resultados.

Si se presentarán reacciones positivas, se realizará la misma técnica de diagnóstico la cual varía únicamente en las diluciones, las cuales serían para este caso las siguientes:

<u>MILILITROS DE SUERO</u>	<u>DILUCION</u>
0.08	1:20
0.04	1:40
0.02	1:80
0.01	1:160
0.005	1:320

El informe del resultado de la prueba, se hace tomando en consideración la dilución más alta en la que se observa reacción positiva.

Para la Brucellosis: Es significativa en todas las edades en cualquier título, pero solo indica presencia de anticuerpos si es mayor del 60%, es sugestiva de infección activa.

Se complementa ésta técnica con un hemocultivo para identificación de la bacteria.

R E S U L T A D O S

HEMBRAS

No. DE ANIMALES	SEXO	E D A D	%	RESULTADOS
24	Hembras	De 3 a 6 meses	4.8%	Negativo
158	Hembras	De 7 meses a 1 año	31.6%	Negativo
93	Hembras	Mayores de 1 año	<u>18.6%</u>	Negativo
			55.0%	

TOTAL DE HEMBRAS 275
 % DE HEMBRAS 55%

MACHOS

No. DE ANIMALES	SEXO	E D A D	%	RESULTADOS
21	Machos	De 3 a 6 meses	4.2%	Negativo
112	Machos	De 7 meses a 1 año	22.4%	Negativo
92	Machos	Mayores de 1 año	<u>18.4%</u>	Negativo
			45.0%	

TOTAL DE MACHOS 225
 % DE MACHOS 45%

Se establece número de animales, y el % correspondiente en cuanto a edad y sexo se refiere.

D I S C U S I O N

En el presente trabajo se expone una técnica serológica de diagnóstico para la identificación de *Brucella Canis* en perros callejeros capturados por el Centro Antirrábico Municipal, habiendo encontrado resultados negativos en todos los perros muestreados al igual que el estudio realizado en el trabajo de Ramírez de Loza (17). Considerando quedado el alto número de perros que constituyen la población canina en ésta ciudad y tomando como base el número de un perro por cada 10 habitantesm la cifra resultante sería de más de 300,000 perros; al haber muestreado 500 perros, tendríamos un porcentaje sumamente bajo de muestras, pero suficiente como para considerar que dados los resultados de este estudio el problema de la brucelosis canina no es un problema grave tanto en los animales que se tiene cierto control sanitario y que son llevados con cierta frecuencia al Médico Veterinario Zootecnista particular como en los que no tienen ese control que son capturados por el Centro Antirrábico Municipal.

Asimismo se está conciente de que el presente estudio no representa la generalidad de los perros de la ciudad, sin embargo sienta las bases para la realización de estudios más exhaustivos, por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara, Instituciones que por contar con el elemento humano y los recursos necesarios, podrían muestraer animales en zonas en donde existe mayor probabilidad de riesgo de adquirir esta enfermedad y así poder obtener resultados concluyentes de esta zoonosis.

CONCLUSIONES

El haber muestreado una población de 500 perros de tipo callejero procedentes de todos los estratos sociales de la Ciudad de Guadalajara, Jal., los cuales fueron capturados por el Centro Antirrábico Municipal, encontramos que las pruebas serológicas practicadas en éstos animales, resultaron negativas a *Brucella Canis*.

Concluyendo que dada la población canina entre perros con propietario y perros callejeros, es superior a los 300,000 animales en el área metropolitana de la ciudad de Guadalajara, Jal., el haber muestreado 500 animales equivaldría a un porcentaje de .16% del total, sin embargo podemos inferir que dados los resultados, la incidencia de *Brucelosis Canina* en Guadalajara es sumamente baja y seguramente es menos a 1% con una probabilidad de 0.95% (20).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alton, G.G.L.M. Jones and D.E. Pietz (1975).
Laboratory in brucellosis, 2nd, Ed. Who. Genera.
- 2.- A.Buxton and G. Fraser Animal Microbiology volumen I
Chapter 10 Brucella, pages 133-140.
- 3.- Bailey, W.R. y Scott, E.G. Diagnostic Microbiology -
2a.ed., st.Louis, the C.V. Mosby Company. 1966 pag. -
273.
- 4.- Bryhley-Morgan W.V. and Mc CCullough, N.B. Genus Bruce
lla, en: Bergey's manual of determinative Bacteriology
Buchanan, R.E. and Gobons N.W. Bth. Edition. The Wi -
lliams and Wilkins Co.- Baltimore. p.p. 278-282 (1974)
- 5.- Carmichael, L.E. y Kenney, R.M., (1968). canine abor -
tion caused by Brucella canis. J.Am. Vet. Med. Ass., -
152 (6):605-616.
- 6.- Carmichael, L.E. Brucellosis (Brucella Canis) in C.R.C.
Hard Book Series in Zoonoses, Steels J.H. E.d. firts -
edition: C.C.C., press Florida, D.W. (1968).
- 7.- Carmichael, L.E., y Brunner D.W. (1968) Characteristics
of newly recognized, Species of Brucella resposable -
for infections canina abortions. Cornell Vet., 58 (4):
579-592.
- 8.- Carmichael, L.E. (1967) canine Brucellosis: Isolation -
Diagnosis, transmisión, Proc. U.S. Livestock San, Asac,
71 sc. Ann Meeting: 571 - 527.
- 9.- Diaz, Jones M.L. and Wilson, H.B. (1968): Antigenic --
relationship of gram-negative Organism Causing Canine -
Aborion to Amooth and rough Brucella.- J.- Of Bacterio -
logy, 95 (2):618-624.

- 10.- Flores, C.L. (1975): Estudio sobre la presencia de Brucella Canis en México.- Resúmen de la XII Reunión-anual. Inst. Nal. de Investigaciones Pecuarías S.A.R. H. México.
- 11.- Gorini, L. y Kaufman, H.: Science (n.y.) 131: 604-605 1960.
- 12.- Guze, L.B.: Microbiol. protoplasts, Spheroplasts and L.forms, the Williams and Wilkins Co. 1968.
- 13.- Hiss, P.H. Zinsser M: Bacteriología de Zinseer 2da. - edición en español. editorial Unión topográfica Hispánica Americana. México D.F. 1964. pág. 510-519.
- 14.- Kirk, Robert W. Current Veterinary Therapy VII. Canine Brucellosis. 1980 W.B. Saunders. Company p.p. 1303 - 1305.
- 15.- Meyers, M.E. (196). Brucella Organism insolated from dogs: Comparation of Characteristics of members of the Genus Brucella.- Am. J. Vet. Rest. 30 (10) 1751-1756.
- 16.- Moore J.A. (1969) Brucella canis infection in dogs.- J.Am. Vet. Med. Ass., (12) 2034-2037.
- 17.- Ramirez de Loza, L.J.: Estudio sobre la posible incidencia de la brucelosis en una población de canideos de la ciudad de Guadalajara Jalisco. (Guadalajara - 1982). Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. de G.
- 18.- Rosner, R.: A. Quantitative evaluation of three blood culture systems. Amerc. J.Clin. Path 57: 220-227. 1972.
- 19.- Sonnenwirth, A.C. y colaboradores: Bacteremia Aspectos clínicos y de Laboratorio, Editorial Medica Panameri-

-cana Buenos Aires, Argentina. 1975.

- 20.- YA-LUN CHOU.- Análisis estadístico. Neva Editorial -
Inter-americana. México. 1977. pags. 337-356.