



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
(UNA)
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
(FACA)
DEPARTAMENTO DE VETERINARIA**

Trabajo de Graduación

Determinación de Brucelosis en la población canina en ocho barrios del Distrito II de Managua utilizando el método de Rosa de Bengala y Rivanol en Septiembre- Diciembre 2007

AUTORES

**Irayda Elena Álvarez Blanco
Emilia Anabell Casco Tellería**

ASESORES

**Dr. Cesar Mora. PhD
Ing. Carlos Ruiz. Msc.**

Managua, Nicaragua

Marzo, 2009

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura de la Facultad de Ciencia Animal como requisito parcial para optar al título profesional de:

MEDICO VETERINARIO

En el Grado de Licenciatura

Miembros del tribunal examinador

Dra. Deleana Vanegas. MSc.
Presidente

Dra. Varinia Paredes. MSc.
Secretaria

Lic. Yadira Mendoza
Vocal

Managua, Nicaragua, 20 de Marzo de 2009.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| SECCIÓN | PÁGINA |
|--|--------|
| DEDICATORIA | i |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTOS | iii |
| AGRADECIMIENTOS | iv |
| ÍNDICE DE CUADROS, FIGURA Y GRÁFICO | v |
| ÍNDICE DE ANEXOS | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT | viii |
| | |
| I. INTRODUCCION | 1 |
| | |
| II. OBJETIVOS | 3 |
| | |
| III. MARCO DE REFERENCIA | 4 |
| 3.1. Etiología | 4 |
| 3.2. Epidemiología | 5 |
| 3.3. Patogenia | 9 |
| 3.4. Signos clínicos | 12 |
| 3.4.1. Hembra | 12 |
| 3.4.2. Macho | 12 |
| 3.5. Respuesta Inmune | 13 |
| 3.5.1. Respuesta inmune humoral | 14 |
| 3.5.1. Respuesta inmune celular | 15 |
| 3.6. Diagnóstico de Laboratorio | 17 |
| 3.6.1. Métodos directos | 17 |
| 3.6.2. Métodos indirectos | 20 |
| 3.6.3. Diagnóstico diferencial | 25 |
| 3.7. Tratamiento | 26 |
| 3.8. Prevención y control | 27 |
| | |
| IV. MATERIALES Y METODOS | 29 |
| 4.1. Localización de estudio | 29 |
| 4.2. Recolección y análisis | 31 |
| 4.3. Procedimiento para la colecta de las muestras | 31 |
| 4.4. Análisis de Laboratorio | 33 |
| 4.4.1. Rosa de Bengala | 33 |
| 4.4.2. Rivanol | 34 |
| 4.5. Análisis Estadístico | 35 |

| | |
|--|----|
| V. RESULTADOS Y DISCUSION | 36 |
| 5.1. Descripción de la población en estudio | 37 |
| 5.2. Pruebas diagnósticas utilizadas en el estudio | 42 |
| 5.3. Estudios similares realizados en otros países | 42 |
| VI. CONCLUSIONES | 46 |
| VII. RECOMENDACIONES | 47 |
| VIII. LITERATURA CITADA | 48 |
| IX. ANEXOS | 54 |

DEDICATORIA

Primeramente a Dios que me regaló la vida, me dio la fortaleza, paciencia y sabiduría para culminar mi carrera.

A mis padres, Sandra Elena Blanco y Joel Enrique Álvarez quienes con su amor, cariño y consejos han sido guía en mi vida, inculcándome siempre el deseo de superación y valores morales.

A mi hermano, Joel Josué Álvarez que cada día me llena de alegría y por todo el cariño y afecto que me brinda.

A mi tío, José Esteban Moreno por su afecto y su apoyo que me ha dado a lo largo de toda mi vida, queriéndome siempre como a una hija.

A una persona muy especial en mi vida, Luis Torres Dávila que a lo largo de estos años me ha demostrado su cariño y su apoyo incondicional.

A mis amores Canela, Rambo y Flipper (1995-2008) que han sido mi inspiración, luz y alegría desde que tengo su compañía.

A todos mis amigos y profesores que me brindaron su estima y su apoyo elemental durante todo el transcurso de mi formación profesional.

Irayda Elena Álvarez Blanco.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, por haberme permitido concluirlo apartando todos los obstáculos que en el camino se presentaron.

A mi madre, Susana Margarita Tellería Solís por ser la luz mas linda y la persona más importante que tengo en mi vida, quien con su amor y ternura siempre me ha dado su apoyo incondicional.

A mi padre, Edwin Francis Casco, por haberme inculcado desde pequeña el amor al estudio y el espíritu de superación.

A la Sra. María Zamora, por ser un ángel en mi camino a quien le debo mucho de lo que ahora soy.

A mis hermanos, David Antonio Casco Tellería y Carlos Fernando Casco Tellería por ser dos personitas muy importante para mí.

A mis dos niñas, mis primitas, Denisse Anabel Meyer y Anaís Meyer, que las amo con todas mis fuerzas.

Emilia Anabel Casco Tellería.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo a DIOS, por la vida, la salud, inteligencia que me ha dado. Así mismo por la oportunidad que me concedió al ampliar mis conocimientos por medio de la realización de este trabajo.

A mis padres, Sandra Elena Blanco y Joel Enrique Álvarez que la elaboración de este trabajo es gracias todo el apoyo que me han brindado a lo largo de toda mi carrera.

A Luis Torres por su apoyo emocional y económico que ha sido fundamental para mi desarrollo profesional.

A la Ing. Rosa Argentina Rodríguez MSc. y el Ing. Carlos Ruíz Fonseca, quienes a pesar de sus múltiples ocupaciones siempre estuvieron dispuestos a recibirnos y ayudarnos para la elaboración de este trabajo.

Al Lic. Freddy Arguello por sus recomendaciones en la elaboración del anteproyecto.

A mi querido profesor Dr. Lázaro Morejón una persona muy especial para mí, a quien agradezco su amistad, cariño y sus valiosos consejos a lo largo de todo el período de mi formación profesional.

Al Dr. William Jirón que nos brindó su apoyo al recibirnos en la (UNAN-LEON) para el análisis de las muestras en estudio.

A Paola Estrella, Bielka Corea, Darwin Silva y Jaime Martínez por el apoyo que nos brindaron en la fase de campo de esta investigación.

A todas las personas que de una o de otra manera fueron partícipes y colaboradores para la presentación de este trabajo, dándonos su apoyo desinteresado...

Que Dios les Bendiga.

Irayda Elena Álvarez Blanco.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme vida e inteligencia para aprovechar la oportunidad de cumplir esta meta.

A mis Padres por haber estado siempre a mi lado apoyándome con sus consejos dándome fuerza y confianza, para llegar hasta el final de mi carrera y aun más.

A la Sra. María Zamora, por ser una pieza importante en mi formación profesional.

A mi tía Maritza Tellería por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida y durante la elaboración de esta investigación.

A la Ing. Rosa Argentina Rodríguez, por apoyarnos y guiarnos con paciencia durante la elaboración de este trabajo.

Al Ing. Carlos Ruiz, por haber dedicado tiempo y esfuerzo para concluir este trabajo.

Al Lic. Freddy Arguello, por todas las recomendaciones que nos brindó.

Al Dr. Lázaro Morejón, por todo el cariño que nos brindó desde el inicio de la carrera y los consejos además del apoyo, que nos dio para que lográramos culminar este trabajo.

A la UNAN- León, especialmente al Dr. William Jirón, por abrirnos las puertas de esta Universidad para realizar los análisis requeridos para este estudio.

A Paola Estrella, Bielka Corea, Darwin Silva Brizuela y a Jaime Martínez por el apoyo que nos brindaron durante la fase de campo de esta investigación.

Agradezco a todos mis amigos y docentes quienes directa o indirectamente estuvieron involucrados apoyándonos desde el inicio en la elaboración de este trabajo.

Emilia Anabel Casco Tellería

ÍNDICE DE CUADROS, GRAFICO Y FIGURA

| CUADRO | PÁGINA |
|---|---------------|
| 1. Porcentaje de asistencia de acuerdo a la edad. | 37 |
| 2. Promedio de edad según raza. | 38 |
| 3. Porcentaje de machos y hembras según raza. | 40 |
| 4. Promedio de edad según raza y sexo. | 41 |

| FIGURA | |
|--|----|
| Figura 1. Patogénesis de la Brucelosis canina. | 11 |

| GRÁFICO | |
|--|----|
| Gráfico 1. Porcentaje de canes según raza. | 39 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| ANEXO | PÁGINA |
|---|---------------|
| 1. <i>Brucella abortus</i> . | 55 |
| 2. Aborto tardío de origen brucélico. | 55 |
| 3. Mapa de Managua. | 56 |
| 4. Población canina por barrio. | 56 |
| 5. Datos generales de canes muestreados. | 57 |
| 6. Formato de levantamiento de campo. | 58 |
| 7. Extracción de la muestra de sangre. | 59 |
| 8. Centrifugación de la muestra. | 59 |
| 9. Identificación del suero. | 60 |
| 10. Solución Rosa de Bengala. | 60 |
| 11. Homogenización de la solución antígeno-anticuerpo. | 61 |
| 12. Mezcla de la solución antígeno-anticuerpo en placa de vidrio. | 61 |
| 13. Reacción de muestra positiva y negativa. | 62 |
| 14. Solución de Rivanol. | 62 |

Álvarez Blanco I. E; Casco Telleria E. A. 2007. Determinación de Brucelosis en la población canina en ocho barrios del distrito II de Managua utilizando el método de Rosa de Bengala y Rivanol en Septiembre - Diciembre 2007. Tesis para optar al grado de licenciado en medicina veterinaria.
Palabras claves: reproducción, zoonosis, sexo, raza, edad.

RESUMEN

En Nicaragua se desconoce la situación actual nacional de Brucelosis en la población canina, debido a que solo se ha realizado un estudio en la zona urbana y suburbana de la ciudad de León acerca de esta enfermedad en esta especie. La importancia del estudio consiste en beneficiar a propietarios y criadores de razas caninas, a los profesionales de la medicina veterinaria que se dedican a las especies menores y técnicos de laboratorios, brindándoles información acerca de la situación de esta enfermedad para ser tomada en cuenta en su labor diaria. Con el objetivo de determinar la prevalencia de brucelosis en caninos con la colaboración del ministerio de salud (MINSAL) durante la jornada de vacunación antirrábica se realizó un muestreo serológico en canes en los barrios B^o Monseñor Lezcano, Las Palmas, Santa Ana Norte, San Sebastián, Bóer, San José, Acahualinca y Batahola Norte del Distrito II de Managua en los meses de Septiembre a Diciembre del año 2007. Se recolectó un total de 100 sueros de canes de ambos sexos, sin categorizarlos por su raza y edad en el momento de la toma de las muestras, las cuales se analizaron por el método Rosa de Bengala (antígeno *Brucella abortus* cepa 1119-3) en el Centro Veterinario de Diagnóstico de investigación, Unidad de Microbiología UNAN- León y como prueba confirmatoria se utilizó Rivanol 1% en el laboratorio del MAGFOR Unidad de Sanidad Animal León. Los resultados obtenidos para el primer método fue de un reactor correspondiente una hembra de 2 meses de edad de raza no definida del barrio Las Palmas que posteriormente resultó negativa a la prueba de Rivanol. La prevalencia encontrada es del 0%.

Álvarez Blanco, I. E; Casco Tellería, E. A. 2007. Determination of brucellosis in the canine population in eight boroughs of District II of Managua city using the Rose Bengal and Rivanol in Setember-December 2007. Thesis to qualify for a Veterinary Medicine degree.

Keywords: reproduction dogs, zoonosis, sex, race, age.

ABSTRACT

Actually in Nicaragua, is unknown the national situation of Brucellosis in the canine population, due to only one study has been carried out in urban and suburban areas of Leon city about this disease on this species. The importance of the study is, benefit owners and breeders of canine races, practitioners of veterinary medicine who take care in minor species and, laboratory technicians, offering information about the status of this disease, to be taken in count in its daily work. In order to determine the prevalence of canine brucellosis, in collaboration with the Ministerio de Salud (MINSAL) at the time of antirabic vaccination, serological sampling was performed in dogs in the neighborhoods Bo Monseñor Lezcano, Las Palmas, Santa Ana Norte, San Sebastian, Boer, San Jose, Acahualinca and Batahola Norte in District II of Managua Turing the months of September to December 2007. Collected a total of 100 sera from dogs from both sex and without categorizing its age and race, which were analyzed by the method of Rose Bengal (*Brucella* antigen *abortus* strain 1119-3) in the Central Veterinary Diagnostic Research, Unit of Microbiology, UNAN Leon and as confirmatory test was used Rivanol 1% in the laboratory of the Animal Health Unit MAGFOR Leon. The results for the first method was a reactor for a female 2 months old breed not defined in the Las Palmas town and that subsequently test negative Rivanol. The prevalence found is 0%.

I. INTRODUCCION

En nuestro país, las familias han desarrollado la costumbre de poseer perros como mascotas y guardianes de sus propiedades, aumentando así la población canina principalmente en la zona urbana y su interacción con el ser humano.

Estos dos factores antes mencionados condicionan el intercambio de enfermedades infecciosas, entre las cuales se encuentra la brucelosis canina, que es una enfermedad de curso subagudo a crónico muy importante en perros, que afecta la actividad reproductiva de estos, ya que esta provoca aborto en el último tercio de la gestación en las hembras; en los machos bajo conteo de espermatozoides.

El género incluye seis especies, cada una de ellas muestra una preferencia por un huésped determinado aunque una especie puede infectar varias especies animales, así se tiene que: *B. abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *B. melitensis* afecta cabras y borregos, *B. suis* a cerdos, *B. canis* infecta perros, *B. ovis* causa infección específicamente a borregos y *B. neotomae* a roedores.

El hombre es susceptible a cualquiera de las cuatro primeras especies, ya que se considera que *B. ovis* y *B. neotomae* poseen una baja virulencia que las restringe solo a ciertos huéspedes (López y Contreras, sf).

En Managua actualmente no se han realizado estudios sistematizados que demuestren la existencia de Brucelosis en las poblaciones caninas, esta es una enfermedad reproductiva de distribución mundial, muy importante de carácter zoonótico y curso crónico, que muchas veces puede pasar desapercibida por la ausencia de signos clínicos.

Con la realización de este trabajo, se pretende conocer la prevalencia de Brucelosis canina en ocho barrios del distrito II de Managua y la relación que existe entre las variables raza, sexo y edad con respecto a la positividad.

Esta investigación favorece a los criadores de razas caninas debido a que esta enfermedad ocasiona pérdidas económicas para aquellos dueños que tienen canes destinados para la reproducción, y a los profesionales de la medicina veterinaria que se dedican a las especies menores, brindándoles información acerca de la situación de esta enfermedad para ser tomada en cuenta en su labor diaria.

Otro aspecto importante de esta enfermedad es la dificultad de su diagnóstico clínico, ya que esta carece de sintomatología específica. Por tal motivo, en la práctica médica con pequeñas especies se deberá considerar como un riesgo laboral que conlleva tratar perros infectados.

Aunque el huésped natural está limitado a perros domésticos, las personas que trabajan en criaderos de perros, propietarios, médicos veterinarios y personal de laboratorio, están en riesgo de contraer la enfermedad al entrar en contacto con secreciones uterinas, placenta y fetos, cuando se presentan abortos o no tomar las medidas de bioseguridad en la manipulación de muestras en el laboratorio; las infecciones accidentales por *B. canis* produce un cuadro clínico con sintomatología similar a la que producen las otras especies de *Brucella* que afectan al hombre.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar la prevalencia de brucelosis en caninos de ocho barrios del Distrito II de Managua.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar el grado de prevalencia de brucelosis en la población canina de ocho barrios del Distrito II de la ciudad de Managua, utilizando el método Rosa de Bengala y Rivanol.
2. Identificar la relación de la enfermedad en cuanto a raza, sexo y edad de los individuos seropositivos.

III. MARCO DE REFERENCIA

Sinonimia: Melitococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo (en el hombre), aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizootico en animales, enfermedad de Bang en bovino (Acha y Szyfres, 2001).

3.1. Etiología

El género comprende actualmente 6 especies; *Brucella melitensis*, *abortus*, *suis*, *neotomae*, *ovis* y *canis* (Anexo 1).

Las tres primeras especies denominadas como *Brucellas* clásicas, se han subdividido a la vez en biotipos que se distinguen por diferentes características bioquímicas y/o comportamiento. La *Brucella melitensis* se subdivide en tres biotipos (1-3), *Brucella abortus* en 8 (1-9) ya que se suprimió el biotipo (8) y *Brucella suis* en 4 (1-4). En esta última especie se ha propuesto un nuevo biotipo para cepas aisladas de roedores en la antigua URSS, con características que difieren de los cuatro biotipos mencionados (Casanova *et al*, 1997).

La brucelosis canina es causada por *Brucella canis* (*B.canis*). Esta bacteria es pequeña (0.6-1.5 micras de longitud y 0.5-0.7 de diámetro). De vida intracelular facultativa, de morfología cocobacilar (Nicolet, 1985). Es Gram negativa, no forma esporas, no posee cápsula, ni flagelos, por lo cual es inmóvil. Son bacilos cortos, delgados y de bordes redondeados.

Generalmente están dispuestos individualmente, aunque a veces lo hacen en parejas o en pequeños grupos de cuatro a seis miembros. Debido a su frecuente apariencia cocoide, se puede dudar de su naturaleza bacilar (Ramírez, 2005).

Brucella abortus es una bacteria en forma bacilar o cocoide que mide 0.6-0.1 por 0.3-0.5 micras. En los tejidos y en los exudados las bacterias son cocoide, pero por el cultivo con algunas resiembras se vuelven bacilares. Se tiñe ligeramente con la mayoría de los colorantes de anilina y son gramnegativos, no forman esporas, carecen de motilidad y son encapsulados.

Aunque la *B. abortus* es aeróbica, requiere alguna presión de gas carbónico para su aislamiento y a menudo algunos subcultivos. En medio sólido las colonias son redondas y semiesféricas. *B. abortus* fermenta la glucosa, el inositol, la manosa, la ramnosa, pero no la maltosa ni la trehalosa (Delgado, 1978).

Brucella suis es aerobia, el pH óptimo varía entre 6.6 y 7.4. crece con mayor rapidez y exuberancia que *Brucella abortus* en medios artificiales, las colonias de *Brucella suis* se distinguen por lo general en la superficie de medios apropiados después de tres días de incubación a 37°C, mientras que las colonias de las otras especies no son visibles si no hasta el cuarto o séptimo día de incubación (Ortez, 1978).

Siendo la bacteria del género *Brucella* un microorganismo gramnegativo, su envoltura celular esta formada por una membrana interna, una externa y un espacio periplasmático intermedio. Este contiene algunas enzimas y proteínas relacionadas con el transporte de solutos y un gel glucopeptídico denominado peptidoglucano, responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. La membrana externa contiene distribuidos asimétricamente fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido (LPS) considerado el principal antígeno (Stanchi *et al*, 2007).

3.2. Epidemiología

Los animales infectados eliminan *Brucella* al medio, contaminando el medio ambiente (pastos, agua, establos). La eliminación es particularmente importante durante el aborto o los partos infecciosos, en estos casos, los loquios, la orina, la leche y los fetos están infectados por lo cual *Brucella* sobrevive por periodos relativamente largos (Stanchi *et al*, 2007).

En heces líquidas la *Brucella* sobrevive durante meses, en materia fecal húmeda 22 semanas, en polvo de la calle 44 días, en agua corriente 30 días, agua estéril contaminada 51 días, suelo de corrales de 2 a 5 semanas, suelo desértico hasta 2 meses, suelo congelado 2 años, en la manteca puede sobrevivir hasta 4 meses, en la leche hasta 6 semanas, en carne refrigerada mas de 14 días y en cremas heladas hasta 30 días. El Ph neutro del suelo y un ambiente húmedo, rico en materia orgánica favorece la sobrevivencia de la bacteria (Horst, 1998).

Lo anterior evidencia que *Brucella* puede diseminarse eficientemente de un medio infectado a uno indemne; los recipientes de leche o agua, las camas, los instrumentos contaminados, los zapatos, perros y aves le sirven de vehículo (Stanchi *et al*, 2007).

López y Contreras (sf) concuerdan en que la importancia especial es la infección como resultado de una transfusión de sangre o de un trasplante de tejido, la médula ósea es la de mayor riesgo. Otra forma de transmisión es de la madre con brucelosis aguda al recién nacido a través de la leche materna o de la placenta produciendo aborto o nacimiento de crías enfermas.

Numerosas especies salvajes pueden infectarse con *Brucella* y en algunos casos, se sospecha que pueden mantener y transmitir la infección a los animales domésticos (Stanchi *et al*, 2007).

El género *Brucella* se ha aislado de muchas especies de artrópodos. La garrapata puede albergarla durante mucho tiempo y transmitir la infección por picadura (Acha, 2003; Laing, 1991 citado por Ramírez 2005).

Sin embargo, el número de garrapatas que albergan *Brucellas* es insignificante y la cantidad de *Brucellas* por garrapata es baja. Las especies aisladas de artrópodos fueron *B.melitensis*, *B.abortus* y *B.canis*. Hay consenso general de que los artrópodos desempeñan un papel insignificante, si es que tiene alguno, en la epidemiología de la brucelosis (Acha, 2003 citado por Ramírez 2005).

Es especialmente común en México y Sudamérica y en los estados del sur de EE.UU, también ha sido diagnosticada en perreras comerciales o de investigación en varios países más, incluyendo Japón y la República Popular China. La enfermedad ha sido reportada esporádicamente en Europa (Sánchez, sf).

El perro puede ser afectado por *Brucella* "cepa lisa" (*B. Abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*) produciendo una enfermedad que en la mayoría de los casos se presenta asintomática, y que puede ser detectable por altos títulos de anticuerpos; la brucelosis canina también puede ser producida por una *Brucella* "cepa rugosa" (*B. canis*) pero que se presenta con sintomatología de abortos, infertilidad, linfadenopatía, orquitis y nacimientos de cachorros débiles (García, 1994).

Brucella canis infecta un huésped susceptible por penetración a través de mucosa en especial de cavidad oral, vaginal y conjuntiva. La dosis infecciosa oral mínima para perros es alrededor de 10^6 bacterias, y la conjuntival de 10^4 a 10^5 microorganismos. Ya que los exudados vaginales y el semen contienen la concentración más alta de bacterias son las fuentes más probables de infección por contaminación de mucosas.

Al parecer las perras infectadas solo transmiten *B.canis* durante el estro, al aparearse o después del aborto a través del contacto mucosal con exudados vaginales. *B. canis* puede eliminarse por periodos de 6 semanas tras un aborto.

La leche de perras infectadas tiene concentraciones mas bajas de bacterias y quizás sea menos importante en su transmisión. El líquido seminal y la orina se relacionan con fuentes de infección de machos que alojan el microorganismo en la próstata y el epidídimo. En machos se encuentra concentraciones de 10^3 a 10^6 microorganismos por ml de orina y en las hembras se presenta menos número de bacterias.

La prevalencia de la infección varia según la edad, condiciones de alojamiento del animal y localización geográfica. Los perros mascota de ambiente suburbano tienen una prevalencia más baja que la de los errabundos de áreas con depresión económica, que quizás reflejan mayor densidad de población y el apareamiento sin control de caninos.

En Estados Unidos y Japón se reporta una prevalencia relativamente baja (límites, 1-18%) en comparación con índices tan altos como el 28% en México y Perú, también se identifican casos en centro y Sudamérica, Alemania, España y Tunes. Se cree que en el sur de Estados Unidos tiene una prevalencia de infección un poco más alta (8%). Entre las razas en esta región, los sabuesos y los cobradores labrador son los que presentan una frecuencia más alta de infección (Greene, *et al.* 2002).

La enfermedad en el hombre es un reflejo de la situación en los animales, ya que este interviene como un hospedador accidental.

Se pueden distinguir dos situaciones: en la población general la infección sobreviene habitualmente por el consumo de productos contaminados y en la población de alto riesgo, la infección se produce por estrecho contacto con el animal infectado, siendo el caso de los veterinarios, criadores, empleados de mataderos y laboratoristas. La *Brucella* es, pues, considerada como una enfermedad profesional (Stanchi *et al*, 2007).

La enfermedad en el hombre

El hombre es susceptible a la infección por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*. El período de incubación en general dura de 1-3 semanas, pero a veces puede prolongarse durante varios meses.

Es una enfermedad septicémica de principio repentino con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de la brucelosis aguda consiste en escalofríos, sudores profusos y elevación de la temperatura. Un síntoma casi constante es la astenia y cualquier ejercicio produce una pronunciada fatiga. La temperatura puede variar desde normal hasta 40°C en la tarde. Los sudores se presentan durante la noche y se caracterizan por un olor particular. Los síntomas comunes insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalalgia, artralgia y dolores generalizados.

La enfermedad produce un fuerte impacto en el sistema nervioso, que se traduce en irritación, nerviosismo, y depresión. Muchos pacientes tienen los ganglios linfáticos aumentados de volumen o esplenomegalia y con frecuencia hepatomegalia, pero raramente ictericia (Acha y Szyfres, 2001).

3.3. Patogenia

El establecimiento y comienzo de la infección por *Brucella spp* depende del número de microorganismos infectantes y de su virulencia, así como también de la susceptibilidad del hospedador (Quinn, *et al*, 2005).

López y Contreras (sf) alegan que el lipopolisacárido liso (S-LPS) posiblemente juega un papel importante, ya que de forma natural las cepas lisas son más patógenas que las cepas rugosas, las cuales poseen virulencia reducida, sin embargo, existen en la naturaleza cepas rugosas que son patógenas, como *B. ovis* y *B. canis* y cepas lisas con virulencia reducida como *B. neotomae*.

Lo anterior sugiere que el LPS no es la única molécula involucrada en la virulencia y que existen otros factores como las proteínas superficiales que pueden participar en la interacción de *Brucella* con su célula huésped.

La bacteria puede ingresar al organismo a través de las mucosas oral, nasal, conjuntival o genital, siendo el período de incubación, en el caso de la administración oral, 6-20 días. (Ramírez, 2005).

La bacteria se adhiere con cierta facilidad a la superficie de las mucosas debido a su gran hidrofobicidad, ya que *Brucella* no posee ni fimbrias ni cápsula; ambas características favorecerían la colonización y la generación de la enfermedad (López y Contreras, sf).

Una vez que se dio el ingreso, es probable que las bacterias sean fagocitadas en los sitios mucosos contaminados por macrófagos tisulares y otras células fagocíticas (Greene, *et al*. 2002). De lo contrario las bacterias se dirigen a los ganglios linfáticos regionales y si las bacterias no son destruidas, pueden sobrevivir largos períodos de tiempo en el interior de las células del sistema retículoendotelial. (Ramírez, 2005).

Durante el curso de la infección ocurre una hiperplasia linforreticular generalizada e hiperglobulinemia, (Greene, *et al*. 2002) que puede tardar varias semanas en producirse y persistir durante meses (Ramírez, 2005).

La *B. canis* tiene la capacidad de crecer intracelularmente dentro de los fagocitos mononucleares (Greene, *et al.* 2002), por lo que se establece una infección persistente en el sistema reticuloendotelial.

Los macrófagos ejercen varios mecanismos contra estas bacterias, como: generación de radicales de oxígeno y de nitrógeno, acidificación del fagosoma, fusión del fagolisosoma y producción de citocinas. A pesar de esto, la *Brucella* es capaz de sobrevivir y multiplicarse gracias a su capacidad de inhibir la formación del complejo fagolisosoma (Ramírez, 2005). Este es el mecanismo principal del que se sirven las *Brucellas* para la supervivencia intracelular y es un determinante principal de la virulencia bacteriana (Quinn, *et al.*, 2005).

Posteriormente, si la bacteria logra vencer la barrera inmunitaria, se disemina vía linfática o hematológica, presentándose la bacteremia, de una a cuatro semanas posteriores a la infección, que puede persistir durante varios meses (6 a 64 meses).

Una vez en sangre, la bacteria se propaga y coloniza tejidos linfoides incluyendo bazo y ganglios linfáticos ilíacos y mamarios; y otros órganos como testículos, próstata, útero, glándula mamaria, hígado (Ramírez, 2005) discos intervertebrales, ojo y meninges (Greene, *et al.* 2002).

En los tejidos donde se localiza la bacteria pueden desarrollarse focos granulomatosos, que pueden transformarse en abscesos. La gran afinidad de las bacterias de este género, por los órganos del sistema reproductor animal, está dada principalmente por la presencia de eritritol en la placenta y líquidos fetales del ganado vacuno, ovino, caprino, porcino (Ramírez, 2005) y felino (Quinn, *et al.*, 2005); así mismo en los genitales masculinos de estas especies (Ramírez, 2005).

El eritritol (polialcohol tetrahidroxibutano) es un derivado de los hidratos de carbono que las *Brucellas* utilizan como fuente de energía y estimulante de su crecimiento.

En el sistema reproductor de los caninos no se ha buscado la presencia del eritritol como en otras especies, en las cuales se le considera responsable al menos en forma parcial de la localización y el crecimiento prolífico de las *Brucellas*.

Existe controversia en cuanto a pruebas de metabolismo oxidativo, ya que Wilson (1983) citado por Ramírez (2005) afirma que *B. canis* no oxida al eritritol, mientras que Stoenner (1979) citado por Ramírez (2005) menciona que si lo hace.

Cuando la *Brucella* se establece en la placenta, ocasionaría un conjunto de patologías dependiendo de la virulencia del agente y de la cantidad de microorganismos infectantes. Si hay un pequeño número de microorganismos, éstos causarían una ligera inflamación de la placenta y es posible que el aborto no se produzca.

Cuando la cantidad es considerable, la inflamación de la placenta puede ser moderada, con focos de placentitis severa que interfieren con el funcionamiento normal de la placenta, lo que no llega a matar al feto pero que desencadena el parto, y como consecuencia se produce el aborto de un feto recién muerto o el parto prematuro de un feto vivo pero inmaduro.

En el caso que la virulencia es alta con gran número de *Brucellas*, éstas pueden matar al feto rápidamente debido a la endotoxemia bacteriana que induce la síntesis de prostaglandina F2a, causando coagulación intravascular e interfiriendo con la circulación sanguínea a nivel de la placenta produciendo hipoxia y acidosis en el feto, provocando una neumonía fetal, para ser expulsado como feto muerto o morir a pocas horas del nacimiento (Ramírez, 2005).

Figura 1. Patogénesis de la brucelosis canina



Fuente: Sánchez, sf.

3.4. Signos clínicos

3.4.1 Hembra

Cuando el útero canino grávido es colonizado, provoca una placentitis, con el consecuente aborto. Siendo este el signo más característico, especialmente entre los 45 y 55 días de gestación. El feto abortado puede presentar autólisis parcial (Anexo 2) y la perra presentar descargas vaginales de color negruzco o gris verdoso hasta por 6 semanas post-infección.

Una hembra infectada puede parir crías débiles con mortalidad neonatal dentro de las primeras 48 horas, o bien estas sobrevivir presentando una linfadenopatía periférica generalizada hasta alcanzar la pubertad, siendo bacterémicos por todo este tiempo. (Greene, *et al.* 2002)

En algunos casos puede ocurrir muerte embrionaria temprana y reabsorción 10 - 20 días después del servicio (Sánchez, *sf.*).

3.4.2. Macho

En los machos ocurre con mayor frecuencia anormalidades testiculares prominentes, no obstante, ocurre infecundidad. Los machos parecen sanos pero pueden tener el escroto aumentado por acumulación de líquido serosanguinolento en la túnica.

Se observa dermatitis escrotal como consecuencia del lamido constante e infección secundaria. Una causa importante de tumefacción testicular es el crecimiento de la cola del epidídimo, rara vez es aparente la orquitis y crecimiento testicular primario. Los machos con infección crónica suelen tener atrofia testicular unilateral o bilateral (Greene *et al.*, 2002), y frecuente compromiso de próstata y vesículas seminales (Stanchi *et al.*, 2007).

Por lo general el volumen del eyaculado está disminuido. No suele encontrarse dolor agudo en la palpación escrotal o testicular, pero puede observarse molestia durante la eyaculación. (Greene *et al.*, 2002).

Entre los signos clínicos inespecíficos en ambos sexos se mencionan: letargia, pérdida de la libido, linfadenomegalia difusa que puede acompañarse de esplenomegalia (Sánchez, sf).

También pueden encontrarse cuadros clínicos de espondilitis, donde las *Brucellas* se localizan inicialmente en la parte externa del anillo, provocando una reacción inflamatoria, apareciendo las lesiones primarias como áreas grises, de decoloración y desorganización, que a menudo se extienden hacia las vértebras.

Además se puede encontrar dolor lumbar, debilidad del tren posterior, discoespondilosis, pérdida de la densidad ósea, reducción de los espacios intervertebrales y uveítis anterior con edema corneal (Ramírez, 2005).

3.5. Respuesta Inmune

Cuando los microorganismos invaden los tejidos de huéspedes mamíferos son generalmente fagocitados por leucocitos polimorfonucleares y fagocitos mononucleares.

Sin embargo, muchos organismos facultativamente intracelulares, como las *Brucellas*, no son destruidas en el interior del fagocito estas se multiplican y pueden destruir las células, liberando más *Brucellas* para repetir el ciclo.

El huésped ha desarrollado mecanismos para responder a los microorganismos y controlar la infección (Ministerio de Agricultura, 1977). Esta respuesta a la infección por *Brucella* puede ser variable, dependiendo de varios factores: del hospedador (idiosincrasia, edad, sexo, estado reproductivo, estado inmunológico) y por otra parte del agente (dosis infectante, virulencia de la cepa) (Stanchi *et al*, 2007).

3.5.1. Respuesta inmune humoral

La acción macrofágica en el interior de los organismos, constituye en general, los primeros intentos de defensa biológica.

Pero esta acción fágica, tiene especial significado en la infección por *Brucella*, ya que en ocasiones, los gérmenes ingeridos no solamente quedan vivos en el interior de la célula, si no que además se multiplican, excretando sus endotoxinas e incluso destruyendo las células, saliendo al exterior para buscar otros tejidos en donde anidar después de originar la bacteriemia (Ministerio de Agricultura, 1977).

Los anticuerpos humorales solo actúan sobre las *Brucellas* cuando estas se encuentran fuera de las células, están constituidos por IgG, IgM, e IgA. Teniendo la segunda una especial significancia. Todas estas inmunoglobulinas son producidas por los Linfocitos B, sensibilizadas por antígenos brucelares de cubierta, o sea, los de naturaleza lipopolisacárida (Ministerio de Agricultura, 1977).

En cuanto a la respuesta humoral, se define que los anticuerpos contribuyen a la protección contra la *Brucella spp.*, sin embargo no son lo suficientemente efectivos como la respuesta celular. La respuesta por IgM es la primera en aparecer y su presencia en el tiempo exacto depende de la ruta y dosis de infección. Por lo general, empieza a disminuir tres meses después del inicio de la enfermedad, aunque en algunos casos puede persistir durante la enfermedad crónica (Brock, 1993; Rojas, 1995 citado por Ramírez, 2005).

La IgG comienza a aumentar en la tercera semana post infección, alcanza su concentración máxima entre la sexta y octava semana y se mantiene elevada por lo menos por espacio de un año en animales no tratados (Brooks, G. *et al.* 1999 citado por Ramírez, 2005).

Las IgG1 son demostrables con la reacción de fijación de complemento y la IgG2 por aglutinación (Nicolet, 1985). Si recibe tratamiento los niveles de IgG disminuyen hacia el sexto mes de iniciada la enfermedad (Brooks, G. *et al.* 1999 citado por Ramírez, 2005).

Si el aumento es persistente, puede deberse a la presencia de microorganismos intracelulares viables en tejido reticuloendotelial o focos de infección (Castillo, 2002 citado por Ramírez, 2005).

Sigue mas tarde la producción de IgA. El nivel de IgM baja paulatinamente, en tanto que las G y la A persisten a concentraciones altas. El papel protector de los anticuerpos humorales (opsonificación) debe estar subordinado en esencia al de la inmunidad celular (Nicolet, 1985).

3.5.2. Respuesta inmune celular

Una vez que la bacteria es ingerida, muerta, y procesada sus antígenos proteicos se localizan en compartimientos dentro de las células presentadoras de antígeno y se procesan hasta pequeños péptidos (de 8 a 12 residuos), y quedan listos para asociarse con moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II.

Estas moléculas presentadoras, que son heterodímeros, se translocan desde el retículo endoplásmico al aparato de Golgi antes de alcanzar la vía endocítica a través de la cual serán presentados en la superficie de la célula (López y Contreras, sf).

Después de la activación de los macrófagos, las células T inmaduras (Th0) se diferencian de células efectoras y de memoria, que están programadas para secretar distintos patrones de citoquinas (Rivers *et al*, sf).

Los linfocitos T CD4 son conocidos como linfocitos colaboradores o helper (Th) se subclasifican en dos, los Th1 y los Th2. Los primeros son conocidos como células T inflamatorias, y son capaces de secretar interleucinas IL-2, interferon (IFN), factor de necrosis tumoral (TNF), pero no secretan interleucina IL-4. En contraste, los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6 y IL-10 pero no IFN-. Todas estas citoquinas van a intervenir en la regulación de la proliferación de los linfocitos ya sea Th1 o Th2 (Ramírez, 2005).

Las Th1 controlan la respuesta de tipo celular, por medio de ciertas citoquinas, en cambio las Th2, controlan la respuesta de anticuerpos por el mismo mecanismo (López y Contreras, sf).

Las citoquinas son moléculas clave en el control de la brucelosis, ya que permiten dirigir las respuestas hacia una respuesta inmune celular o humoral (Rivers *et al*, sf).

Se considera que *B. abortus* es un fuerte inductor de inmunidad celular tipo 1, debido probablemente, a su capacidad para estimular la producción de IL-12 en macrófagos. La interacción del LPS con el receptor CD14 induce la producción de IL-12. La citocina IL-12 estimula células NK (células de actividad lítica) y T CD4 para que secreten IFN- γ (López y Contreras). Este mecanismo induce a la diferenciación de linfocitos Th0 en linfocitos Th1 (Rivers *et al*, sf).

El rol principal de la secreción de IFN- γ por las células Th1 en la inmunidad contra *Brucella* es activar la función bactericida de los macrófagos y linfocitos T CD8⁺ citotóxicos, así como la estimulación de la secreción de IgG2a.

En términos numéricos, la población celular predominante es la de linfocitos T CD4⁺ productores de IFN- γ , responsables de la activación de macrófagos y la atracción de células inflamatorias efectoras, de ahí su importancia en promover la respuesta celular adquirida contra *Brucella*.

Las células citotóxicas T CD8⁺ pueden actuar como células efectoras y eliminar macrófagos infectados con *Brucella* directamente. Las células blanco son reconocidas por las células citotóxicas en el contexto de las moléculas de histocompatibilidad de clase I (MHC I) y son eliminadas por la acción de perforinas y granzimas (Rivers *et al*, sf).

Los linfocitos T CD4⁺ reconocen péptidos asociados al MHC clase II y los T CD8⁺ interaccionan con péptidos asociados al MHC clase I (López y Contreras, sf).

3.6. Diagnóstico de Laboratorio

3.6.1. Métodos directos

- **Bacteriológico**

El diagnóstico definitivo de *Brucella* se hace por el aislamiento de la bacteria, sin embargo su sensibilidad depende de las condiciones de la toma y conservación de la muestra, del tiempo transcurrido desde el momento de la infección al examen, y de la aplicación de un protocolo que garantice el crecimiento de un microorganismo complicado como son todas las especies del género *Brucella* (Molina, 2007).

Las muestras a remitir deben ser enfriadas inmediatamente después de su extracción, y si han de ser enviadas a sitios alejados (12 hrs. ó más de viaje), deben ser congeladas. Las muestras recomendadas para el diagnóstico del género *Brucella* son:

Isopados Vaginales: El período postparto o postaborto es el ideal (Stanchi *et al*, 2007).

Sangre: La presencia del microorganismo en sangre se puede detectar a partir de la tercera a cuarta semana postinfección, y puede durar hasta un año y quizás más en el 80-100% de los animales (Molina, 2007).

Membranas fetales: Esta muestra puede contener un muy alto número de bacterias, por lo que debe manipularse con sumo cuidado.

Fetos: Contenido estomacal, trozos de bazo, ganglios, pulmón.

Tejido sólido: Los trozos de bazo, ganglios linfáticos, pulmón son macerados en solución salina estéril antes de su siembra. La homogeneización de estos tejidos aumenta las probabilidades del aislamiento, respecto de la simple siembra por contacto o frotamiento entre el tejido y la superficie del medio de cultivo (Stanchi *et al*, 2007).

Cuando se pretende aislar *Brucella canis* a partir de muestra de semen la mayor sensibilidad se tiene entre la tercera a la onceava semanas después de la infección, a partir de la semana doce el número de microorganismos en el eyaculado va disminuyendo y muy probablemente a la semana sesenta el cultivo será negativo a pesar de que el animal continúe infectado (Molina, 2007).

- **Medios de cultivo**

Medios de base enriquecida: La mayoría de las cepas de *Brucella* crecen bien en medios base disponibles comercialmente, como los de triptacasa-soya, triptona-soya, Bacto-triptosa. También pueden emplearse los medios base para agar sangre. En el caso de *B. ovis* y la biodiversidad 2 de *B. abortus*, debe agregarse un 2-5% de suero.

Medio selectivo: El procesado de muestras contaminadas requiere el uso de medios selectivos para inhibir el desarrollo de aquellos contaminantes de crecimiento rápido que podría dificultar el aislamiento de *Brucella*.

Los medios selectivos se logran incorporando antibióticos, a los medios de base. Existen varias fórmulas tales como las de Kuzdas- Morse, de Farrell y de Thayer-Martin. El medio de Farrell incluye cicloheximida, bacitracina, polimixina B, vancomicina, ácido nalidíxico y nistatina.

Medios bifásicos: Son medios destinados al cultivo de muestras líquidas de gran volumen. Se caracteriza por poseer una fase sólida, la cual está en contacto con un caldo. Las muestras líquidas de origen animal generalmente llegan contaminadas al laboratorio. En estos casos, los medios bifásicos pueden usarse haciéndolos selectivos por el agregado de antibióticos (Stanchi *et al*, 2007).

- **Hemocultivo**

El aislamiento de *Brucella spp.* constituye el método diagnóstico definitivo. Suele obtenerse por hemocultivo o cultivo de médula ósea y, más raramente, por cultivo de líquido cefalorraquídeo, líquido articular, exudado purulento, etc. El medio clásico de Ruiz Castañeda, que utiliza una fase sólida y otra líquida, es el más apropiado para el diagnóstico.

En la mayoría de los procesos agudos, tras incubar el medio 2-4 días, es posible observar en la fase sólida pequeñas colonias que se deslizan por el agar en forma que recuerdan las lágrimas de cera resbalando por la vela. Una pequeña proporción de casos presenta el crecimiento entre los 5-15 días, y sólo de forma excepcional, éste se retrasa hasta pasados 30-45 días.

En los procesos agudos, incluso cuando la extracción de los hemocultivos se practica en fase afebril, el porcentaje de aislamiento oscila entre el 90-95% de los casos. En casos de fracaso terapéutico o reinfección este porcentaje no suele superar el 60%.

En los últimos años, debido a la importante sobrecarga de trabajo, los sistemas manuales de hemocultivo han ido sustituyéndose por aparatos de lectura automática.

El género *Brucella*, debido a su escasa producción de CO₂, lento crecimiento y baja actividad metabólica, se ha convertido en paradigma para la evaluación de la sensibilidad de estos nuevos sistemas. De ellos se han evaluado de forma conjunta tres: VITAL (bioMérieux), BACTEC (Becton-Dickinson) y BACT/ALERT (Organon Teknika), resultando ser el sistema BACTEC el más eficaz, capaz de detectar la presencia del microorganismo tras 3 a 5 días de incubación.

Cabe destacar que todos los aparatos estudiados presentan falsos negativos, circunstancia que obliga, en aquellas áreas donde la enfermedad es endémica, a hacer subcultivos a todos los hemocultivos con sospecha de brucelosis.

El aislamiento de *Brucella spp.* a partir de hemocultivo suele ser la primera fuente diagnóstica de la enfermedad en áreas geográficas con muy baja incidencia. En casos de muestras contaminadas (abscesos, restos placentarios, etc.) deben utilizarse medios selectivos de los que, si bien hay varios descritos, probablemente el más accesible y práctico para la mayoría de los laboratorios es el medio modificado de Thayer-Martin (Montes, sf.).

- **Observación Microscópica**

Las *Brucellas* se pueden poner de manifiesto por microscopía de improntas de material sospechoso. Aunque las *Brucellas* no poseen una verdadera acidoresistencia tintorial, resisten la decoloración en una solución acuosa de ácido acético al 0.05%.

La observación microscópica de pequeños bacilos o cocobacilos teñidos de rojo es un indicativo de la presencia de *Brucella spp.* La bacterioscopía es una técnica fácil, rápida y económica, pero siempre debe confirmarse mediante el cultivo del microorganismo (Vadillo, 2002 citado por Ramírez, 2005).

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Dada la extrema sensibilidad que muestra la detección de DNA bacteriano mediante PCR en las distintas muestras estudiadas (Montes, 2008), se ha llegado a detectar un equivalente de 100 células de *Brucella* (Stanchi et al, 2007).

3.6.2. Métodos indirectos

- **Serológico**

Aunque el diagnóstico de certeza, de especificidad absoluta es el bacteriológico, las dificultades propias de su implementación hacen que la serología sea el recurso diagnóstico más utilizado.

Las pruebas serológicas dan una evidencia de infección brucelar, pero cuando son efectuadas en forma uniforme y se las interpreta con criterio epidemiológico, tomando en consideración todo el rodeo constituyen el instrumento más práctico para el diagnóstico (Stanchi *et al*, 2007).

- **Aglutinación**

En sus diferentes modalidades, es la prueba más utilizada debido a su rapidez y sensibilidad. El aumento significativo del título de anticuerpos es la base diagnóstica de la enfermedad.

Rosa de Bengala

Utiliza como antígeno en una suspensión bacteriana a la que se ha añadido el colorante rosa de bengala, enfrentándola al suero sin diluir del enfermo. Proporciona una aproximación diagnóstica en pocos minutos con una sensibilidad y especificidad muy altas.

Presenta elevado grado de correlación con la seroaglutinación y, por su simplicidad, es muy útil como prueba de despistaje inicial o screening. Sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado (Montes, sf.).

Rivanol

La prueba de Rivanol es un método cuantitativo, rápido que se realiza a los sueros de animales positivos a la prueba de tarjeta con la finalidad de diferenciar una respuesta postvacunal de una respuesta de tipo infeccioso (Montes, sf.). El antígeno consiste en una suspensión de *B. abortus* inactivada a una concentración del 4% a Ph 5.8-6.2 teñida con verde brillante y cristal violeta.

Para lograr una buena aglutinación se utiliza una solución de Rivanol al 1% junto con el suero animal a probar, en una proporción de 1:1 (Díaz *et al*, 1999).

El sobrenadante contiene principalmente anticuerpos del isotipo IgG₁ IgG₂ que son capaces de aglutinar el antígeno (Morilla y Tercero, 1997).

Seroaglutinación en tubo o placa con pocillos

Enfrenta diluciones crecientes del suero problema a una cantidad constante de *B. abortus*. Este antígeno reacciona tanto con anticuerpos de esa especie como frente a los de *B. melitensis* y *B. suis*, que son las tres especies responsables en la práctica de la totalidad de enfermos con brucelosis.

El título positivo de 1/160 se considera, en un país endémico como España, el punto de corte en el diagnóstico de la enfermedad, no siendo raros los títulos de 1/640 o superiores en las fases iniciales de la enfermedad.

Su interpretación requiere conocer los antecedentes del enfermo y valorar las características clínicas presentes puesto que, al inicio de la enfermedad o en casos muy avanzados de la misma, la prueba puede ser, como el Rosa de Bengala, negativa.

Debido a que los anticuerpos responsables de la seroaglutinación son fundamentalmente de la clase IgM, lo habitual es que vayan descendiendo en el transcurso de 3-6 meses, con o sin curación de la enfermedad (Montes, sf).

La prueba de aglutinación rápida en placa (RSAT) puede ser positiva dos semanas después de la inoculación. Aunque existen escasos falsos negativos, si aparecen muchos falsos positivos debido a las reacciones cruzadas con otras infecciones.

Debería reconfirmarse toda prueba positiva. La prueba de aglutinación en placa con mercaptoetano (ME-SAT) suele positivarse a las cuatro semanas pero es más específica que la RSAT.

La prueba de aglutinación en tubo (PAT) se positiviza a las tres a seis semanas. Títulos superiores a 1:200 indican una infección activa. Títulos inferiores a 1:100 indican que no existe una infección activa. Pueden aparecer falsos positivos.

La prueba de aglutinación en tubo con mercaptoetano (ME-PAT) puede ser positiva a las cinco a ocho semanas y ocasiona menos falsos positivos. Títulos superiores a 1:100 indican una infección activa (Sodikoff y Harourt, 2002).

Prueba 2-Mercaptoetanol

La prueba del 2-ME es colectiva y se basa en el hecho de que los anticuerpos IgM se degradan debido a la acción de ciertos compuestos que contienen el radical tiol, tales como el 2-Mercaptoetanol, la cisteína y el dithioeritrol sin producir efectos sobre los anticuerpos IgG. (McMahon, 1983 citado por Casanova, *et al*, 1997).

El 2-mercaptoetanol (ME), además de poseer buena especificidad (Nielsen, 1995 citado por Samartino, *et al*, 2007), puede también presentar buena sensibilidad. Las desventajas son el tiempo para la realización del test, gran volumen de reactivos y material de vidrio y utilización de reactivos tóxico.

Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Con estas técnicas se puede detectar la presencia de los anticuerpos específicos que se seleccionen (IgG, IgM o IgA), con unos valores excelentes de sensibilidad y especificidad. El antígeno absorbido sobre placas de poliestireno es, fundamentalmente, el lipopolisacárido de brucelas en fase lisa. Los anticuerpos IgM, por su rápida desaparición son valorables, pero no puede olvidarse que los anticuerpos IgG pueden persistir en sujetos curados.

Aunque permiten conocer con una mayor precisión el perfil de las inmunoglobulinas en el curso de la enfermedad, tampoco ofrecen la posibilidad de establecer un criterio para discernir entre curación y evolución a cronicidad.

Prueba de Coombs

Es de gran interés para el diagnóstico de la brucelosis crónica. Se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, fundamentalmente IgG.

El suero de Coombs (inmunoglobulina humana) se encargaría de facilitar la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes del suero problema, fijados a la suspensión antigénica de *B. abortus*.

El título obtenido es, por ello, como mínimo el de la aglutinación y generalmente es mucho más elevado, tanto más cuanto mayor es el tiempo de evolución de la enfermedad. Pueden persistir en ocasiones de forma prolongada y con titulación elevada, incluso en pacientes con tratamiento adecuado y buena evolución clínica.

Hay que citar como posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* y *Yersinia enterocolitica* 09 (Montes, sf.).

- **Prueba alérgica**

La respuesta cutánea se considera a menudo solo como una reacción local. La inyección intradérmica de antígeno en un individuo sensibilizado específicamente produce una reacción eritematosa indura.

La reacción de hipersensibilidad retardada se caracteriza por una respuesta máxima a las 24-48 hrs de la inyección. Histológicamente hay una infiltración celular mononuclear en el sitio de la prueba cutánea a las 24 hrs.

Las reacciones debidas a las inmunoglobulinas se denominan reacciones de hipersensibilidad inmediata. Si hay anticuerpos citotrópicos, se desarrolla una pápula y eritema a los 20 minutos de la inyección intradérmica que persisten.

Si existen títulos altos de anticuerpos persistentes circulares, el edema y eritema pueden desarrollarse de 2-4 hrs después de la inyección intradérmica del antígeno.

El complejo antígeno-anticuerpo fija el complemento y atrae a los leucocitos polimorfonucleares. La persistencia de la reacción varía según las proporciones relativas de antígeno anticuerpo, pero puede superponerse en el tiempo a la reacción de hipersensibilidad retardada.

Se esta de acuerdo que en una prueba alérgica negativa no prueba que un individuo no este infectado ya que puede ser negativo durante el período proliferativo de la enfermedad, cuando las pruebas serológicas son normalmente positivas.

Los individuos con función linfocitaria deficiente o con tratamiento con drogas inmunosupresoras pueden dar pruebas cutáneas negativas incluso estando infectados con *Brucella*.

Las dos principales razones que han restringido el uso de prueba cutánea son:

1. Los anticuerpos séricos pueden aumentar sus títulos tras la prueba e interferir en los estudios posteriores.
2. Ocasionalmente ocurran reacciones cutáneas extremadamente graves en individuos altamente sensibilizados, incluso con antígenos cuidadosamente estandarizados (Ministerio de Agricultura, 1977).

3.6.3 Diagnóstico diferencial: En caso de abortos, se hace con *Streptococcus beta hemolitico*, *Escherichia coli* y *Herpesvirus* canino dependiendo de si hubo aborto, muerte fetal o nacidos muertos a termino (Molina, 2007).

A nivel de laboratorio las cepas de *Brucella* en fase lisa se deben diferenciar de la reactividad antigénica cruzada con otras bacterias gramnegativas. Esta comunidad antigénica se debe a la similitud de las cadenas del polisacárido O presente en las bacterias, como por ejemplo *Yersinia enterolítica* 0:9 que presenta un polisacárido O idéntico al hallado en *B. abortus* biovar 1.

Otras bacterias que presentan reacción cruzada son: *Salmonella landau*, *Pseudomona maltophilia* 555, *Vibrio cholerae* y *E. coli* O: 157 (Stanchi et al, 2007).

3.7. Tratamiento

El tratamiento no se recomienda para perros donde no puedan ser aislados y monitoreado después de la terapia con antibióticos. El tratamiento es caro y la curación es difícil de lograr, especialmente en los machos crónicamente infectados. Se requieren cultivos de sangre repetidos y monitoreos serológicos por lo menos durante 3 meses pos-tratamiento antes de que un perro pueda ser declarado negativo.

La agravación de la infección después de la suspensión del tratamiento con antibiótico es común, los machos frecuentemente permanecen estériles por el daño irreversible a los testículos y epidídimos (Sánchez, sf.).

Como medidas mínimas, las mascotas infectadas deben ser castradas y recibir un régimen de antibiótico terapia para reducir la posibilidad de infectar a los miembros de la familia a través de sus secreciones genitales. El microorganismo puede persistir en los tejidos de animales castrados, pero se piensa que es menos probable que se elimine (Greene, *et al*, 2002).

Los resultados más exitosos y prácticos se han obtenido con una combinación de tetraciclina, por ejemplo, el hidrocloreuro de tetraciclina, la doxiciclina, la minociclina y la estreptomicina administrada durante los primeros 3 meses de infección.

Si está disponible, la dihidroestreptomicina (10mg/kg IM 2 veces por día) se da por los primeros 7 días de tratamiento junto con una tetraciclina (25 mg/kg oral 3 veces por día), la cual se continúa por 4 semanas.

Durante los últimos 7 días de la terapia con tetraciclina, se da nuevamente la estreptomicina. En algunos casos, cuando falla el primer curso de tratamiento, un segundo curso ha resultado exitoso (Sánchez, sf.).

El tratamiento no está recomendado para perros de cría, ó cuando un seguimiento a largo plazo (3 meses) es improbable. Las fallas del tratamiento son especialmente comunes en los machos infectados donde los organismos son comúnmente secuestrados en la glándula prostática y epidídimos.

3.8. Prevención y control

La presentación de brucelosis canina en un plantel de cría debe considerar las medidas tendientes a identificar a los animales infectados a través de un buen diagnóstico. Es por ello que los reproductores deben estar sometidos a un chequeo permanente, así como todo animal nuevo ingresado debe ser seronegativo y permanecer un período razonable en observación (cuarentena).

La recomendación de eliminar de la reproducción a un animal infectado es prioritaria, dicho animal si no es sacrificado debido a razones afectivas, debe ser esterilizado. Cuando en un criadero ocurren abortos, existen problemas de infertilidad o se detectan machos con epididimitis, es fundamental efectuar exámenes serológicos de inmediato a los individuos comprometidos.

En caso de arrojar seropositividad a *B. canis*, se sugiere seguir los siguientes pasos:

1. Cuarentena del criadero durante el período de erradicación de la enfermedad.
2. Efectuar exámenes serológicos y hemocultivos a todos los animales del criadero.
3. Identificar la fuente de la infección (montas, animales nuevos).
4. Eliminar del criadero a todos los animales positivos. La separación física de los animales sanos de los infectados, aun manteniendo estrictas medidas de higiene, no es suficiente para evitar la propagación de la enfermedad. Los animales positivos deben ser esterilizados, tratados con antibióticos y retirados del criadero.
5. Los animales negativos tratarlos con antibioticoterapia por 1 mes y hacer controles serológicos mensuales, de modo de eliminar a los nuevos casos positivos, hasta que no aparezcan más positivos por 3 meses consecutivos. Se pueden esperar nuevos casos durante los primeros 5 meses.

6. Limpieza rigurosa de las perreras de los animales infectados y desinfección con productos del tipo amonio cuaternario y yodado. La bacteria sobrevive poco tiempo en el medio, no así en materia orgánica.
7. Continuar evaluando los animales cada 3 meses por un año y establecer un plan de prevención para evitar nuevos brotes de la enfermedad.

Los intentos por desarrollar una vacuna conveniente que induzca inmunidad, sin provocar respuesta serológica que interfiera con el diagnóstico, no han sido exitosos. Actualmente las vacunas presentarían el inconveniente de conferir sólo una moderada protección y estimular la producción de anticuerpos que podrían confundir el serodiagnóstico.

La prevención de la infección y la eliminación de los perros infectados debe ser la principal estrategia de control en los criaderos (Sánchez, sf).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del estudio

El presente estudio se realizó en ocho barrios del Distrito número dos de Managua en las coordenadas 12°9' N / 86°16' O el cual se ubica en el extremo noroeste de la ciudad a orillas del Lago Xolotlán y constituye el más pequeño de la capital y cuenta con 106 barrios (Anexo 3).

Limita al Norte con el Lago de Managua, al Sur con el Distrito III, al Este con el Distrito IV y al Oeste con el Municipio de Ciudad Sandino.

Cuenta con una superficie de 18.0514 Kilómetros cuadrados, equivalente a 1,805.1435 Hectáreas y 18,051,435.8777 metros cuadrados.

Según INETER (2008) la zona cuenta una Precipitación de 1119.8mm, temperatura de 26.9°C, humedad relativa de un 74% y viento con una velocidad de 1.6 m/seg.

Se estima una población para el año 2001 de 144,538 habitantes de los cuales 71,402 son hombres y 73,136 son mujeres con una densidad poblacional de 8,007 Habitantes por Kilómetro Cuadrado.

En el distrito II existen 106 Barrios de los cuales 13 son Residenciales, 6 Barrios Tradicionales, 11 Barrios Populares, 27 Urbanizaciones Progresivas y 49 Asentamientos Espontáneos (MANFUT, sf).

Los barrios muestreados durante el estudio fueron, B^o Monseñor Lezcano, Las Palmas, Santa Ana Norte, San Sebastián, Bóer, San José, Acahualinca y Batahola Norte.

Se estima una población en todo el distrito II de 17,040 perros, y en los ocho barrios muestreados se registra una población de 5449 caninos para el año 2007 con una proporción de un perro por cada ocho habitantes en el distrito (Anexo 4) (Sánchez y Rayo, 2008).

Tipo de estudio

El tipo de estudio es exploratorio de corte transversal. Con el cual pretendemos determinar la prevalencia de *Brucella spp* en la población canina de ocho barrios del distrito II de Managua.

Tamaño de muestra

La población de canes en el distrito II de Managua para el año 2007, en los ocho barrios muestreados es de 5449. Con una prevalencia esperada del 1%, con un margen de error aceptable del 2% y un grado de confianza del 98%, el tamaño de la muestra es de 100 canes (Sánchez, Rayo, y Montoya, 2008).

Tipo de muestra

Es no probabilística.

Limitantes

1. Económicas.
2. Desconfianza de los propietarios para permitir la toma de muestra de sangre de su perro.

Sánchez, F; Rayo, L. Montoya, A. 2008. Población y prevalencia en canes según el MINSA. Ministerio de Salud, Dirección Central, María Concepción Palacios. Entrevista Nicaragua.

4.2 Recolección y análisis

Para la elaboración de este estudio se escogieron ocho barrios del distrito II de Managua, para tal fin formamos parte de la jornada de vacunación antirrábica del MINSA (Ministerio de Salud) realizada en el mes de Septiembre de 2007.

Los barrios escogidos para el estudio fueron seleccionados de acuerdo a su bajo nivel socioeconómico, razón por la cual algunos de sus habitantes no tienen la facilidad de brindarles a sus canes atención veterinaria y control reproductivo, aumentando los riesgos de contraer la enfermedad.

Para la realización de este trabajo se recolectaron un total de 100 muestras de sangre en perros de ambos sexos, sin categorizarlos por su raza y edad (Anexo 5), las cuales se analizaron mediante el método de Rosa de Bengala en el Centro Veterinario de Diagnóstico e investigación, Unidad de Microbiología UNAN (Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua)- León y la que resultó seropositiva, se confirmó por el método Rivanol con la colaboración del Laboratorio de MAGFOR (Ministerio de Agricultura Ganadería y Forestal) Unidad de Sanidad Animal León.

4.3 Procedimiento para la colecta de muestras

Para el procesamiento de la información se diseñó una hoja recolectora de datos (Anexo 6) en la cual se escribió el nombre del barrio y la fecha, en el margen superior. A cada mascota se le asignó un número en orden ascendente el cual correspondía a la información de este, luego se le solicitó al dueño sus datos generales así como el nombre y la edad de su mascota.

Seguidamente se anotó el sexo y la raza del espécimen, así mismo se apuntó en la tabla de observaciones si en el can se encontraba la presencia de ectoparásitos, o alteraciones en piel y pelo.

Este procedimiento se realizó a cada individuo de la población muestreada para garantizar la debida identificación de cada muestra analizada, con el objetivo de facilitar la interpretación de los resultados obtenidos durante el estudio.

Se hizo la sujeción adecuada del paciente para garantizar tanto su seguridad como la del equipo de trabajo, luego se procedió a desinfectar el área con un algodón humedecido con alcohol y se extrajo 2ml de sangre de la vena safena externa, mediante punción y presión digital (Anexo 7).

La venopunción se hizo con una aguja calibre 21Gx 1.5” y una jeringa de 3 ml. descartable utilizando una por can, una vez tomada la muestra, se vertió la sangre en un tubo de ensayo de 10 ml ligeramente en dirección vertical sin anticoagulante, limpio, esterilizado y debidamente identificado. Se depositaron las muestras en un termo con hielo en gradillas metálicas, a una temperatura de 4°C.

Las muestras fueron trasladadas y almacenadas en el laboratorio de parasitología de la Universidad Nacional Agraria (UNA) en la Facultad de Ciencia Animal, donde se colocaron en una centrífuga a 3500 rpm durante 15 minutos para separar el suero del coágulo (Anexo 8). El suero extraído se depositó en microtubos para centrífuga de 1.5 ml, los cuales fueron identificados (Anexo 9) y almacenados en un congelador a una temperatura de -20°C.

Para la realización de los análisis de laboratorio las muestras fueron colocadas en un termo con hielo para ser trasladadas y depositadas en un congelador a -20°C en el Centro Veterinario de Diagnóstico e investigación, Unidad de Microbiología UNAN – León, donde se les realizó la prueba de Rosa de Bengala.

La muestra reactiva positiva se transportó al Laboratorio del MAGFOR Unidad de Sanidad Animal-León para su confirmación mediante el método de Rivanol.

4.4. Análisis de laboratorio

4.4.1. Rosa de Bengala

El fundamento principal de la prueba es la inhibición de los anticuerpos de baja afinidad con actividad inespecífica, aumentando de esta manera la especificidad de la prueba.

Para el análisis de laboratorio se utilizó Aba Test Tarjeta al 8%. Contiene antígeno *Brucella abortus* cepa 1119-3 inactivada por calor concentrada al 8% con un ph de 3.6. Lote número 3220266 (Anexo 10).

La técnica consistió en dejar que el suero y el antígeno alcanzaran la temperatura ambiente por b menos 35 min a 1 hora, luego se mezcló el suero antes de colocarlo en la placa de vidrio milimetrada y debidamente codificada.

Con la pipeta automática se extrajo 50 ul de suero para colocarlo en la placa de vidrio y se vertió 50 ul de antígeno sobre el suero, para luego mezclar las dos soluciones durante un minuto con palillos estériles en forma circular hasta llegar a un diámetro de 2-3 cm. (Anexo 11).

Después de mezclar se tomó la placa de vidrio y se movió en forma circular durante 5 minutos (Anexo 12). Si después de este tiempo se observa aglutinación o grumos en la solución entonces el suero contiene anticuerpos y la muestra se considera positiva, si permanece líquida se considera negativa (Anexo 13).

Instrumentos de laboratorio que se utilizaron para el análisis de muestras mediante el método Rivanol:

1. Antígeno de *B. abortus* cepa 1119 -3 (Anexo 14).
2. Solución de Rivanol 1% Peso a volumen: 1. 1 g de Rivanol (lactato de 2 etoxi – 6 ,9 diamino-cridina) se disuelve en H₂O destilada estéril mezclando en agitador magnético durante 1 hora. Envasar en forma estéril en frasco pequeño en color ámbar y almacenar en oscuridad.

3. Pipeta de Bang (serología de 0.2 ml graduada en 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005).
4. Caja de Wisconsin para lectura (aglutinoscopio que consiste en una caja de 48 cm. de largo x 36 cm. de ancho 12 cm. De profundidad con una placa de vidrio y 2 bombillos de luz blanca de 60 voltios).
5. Palillos o extensor múltiple para mezclar la dilución.

4.4.2. Rivanol

Es un método cuantitativo, rápido, complementario a la prueba de tarjeta por lo que se utilizan los sueros que salieron positivos a la prueba de tarjeta. El antígeno consiste en una suspensión de *B. abortus* inactivada a una concentración del 4% a Ph 5.8-6.2 teñida con verde brillante y cristal violeta.

El fundamento de la prueba de Rivanol consiste en precipitar selectivamente varias proteínas del suero entre ellas la macroglobulina (IgM) y aglutininas inespecíficas. El sobrenadante contiene principalmente Ac del isotipo IgG₁ IgG₂ que son capaces de aglutinar el antígeno.

El procedimiento inició en centrifugar la mezcla de suero. Se dejó que el suero, antígeno y solución Rivanol 1% alcanzaran la temperatura ambiente por lo menos 35 min. a 1 hora antes de proceder a realizar la prueba .

En tubos de 13 x100 mm. Se adicionó 0.4 ml. de Rivanol 1% y 0.4 ml de suero sin diluir. Luego se mezcló inmediatamente y se dejó en reposo durante 20 min. pasado este tiempo se centrifugó a 2000 rpm durante 10 min. y se tomó el sobrenadante y se colocó 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml del suero en la placa de vidrio cuadrada.

Después se agregó 0.03ml de antígeno a cada dilución y se mezcló con agitador múltiple de mano empezando por las mas diluidas de 0.005 ml hasta 0.08 ml. Se hizo girar 4 veces la placa con un movimiento de rotación y se dejó reposar durante 6 min. cubriendo la placa.

Por segunda vez se giró 4 veces la placa con movimiento de rotación y se dejó reposar durante 6 min. cubriendo la placa. Por último se giró nuevamente la placa en 4 ocasiones y se observó el resultado (la prueba dura 12 min.).

Interpretación:

Positiva (+): hay aglutinación completa y los grumos formados están separados por líquido claro.

Positiva incompleta (I): hay aglutinación definida pero no hay claridad completa en el líquido que separa los grumos.

Negativa (-): no hay aglutinación. (Morilla y Tercero, 1997).

VARIABLES EN ESTUDIO

Prevalencia: Se refiere a la cantidad de enfermedad presente en una población conocida durante un período de tiempo determinado, sin distinguir los casos nuevos de los antiguos. Así, se puede describir una prevalencia anual, mensual o de toda la vida. La prevalencia generalmente se expresa como prevalencia puntual, la cual es la cantidad de enfermedad que existe en una población en un momento determinado del tiempo (Thrusfield, 1990).

Raza: Cada uno de los grupos en que se subdividen algunas especies biológicas y cuyos caracteres diferenciales se perpetúan por herencia.

Edad: Tiempo que ha vivido una persona o ciertos animales o vegetales.

Sexo: Condición orgánica que distingue al macho de la hembra, en el ser humano, los animales y las plantas (Real Academia Española, 2001).

4.5. Análisis estadístico (análisis descriptivo)

Se estructuró la base de datos concerniente a la información cuantitativa y cualitativa en hojas electrónicas Excel, las que posteriormente fueron analizadas en el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System), para determinación de frecuencias, y parámetros como medias y desviaciones estándar.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 100 sueros sanguíneos analizados por el método de Rosa de Bengala se obtuvo un reactor que corresponde a una hembra sin pureza racial de 2 meses de edad, muestreada en el barrio Las Palmas. Como método confirmatorio se utilizó la prueba de Rivanol, la cual resultó negativa.

Por tanto la prevalencia encontrada en el presente estudio fue del 0%. Con lo que podemos decir que los animales seleccionados se encuentran libres de la enfermedad. Debido a la ausencia de enfermedad no se realizó ningún análisis estadístico para determinar la relación entre las variables (edad, sexo, raza) y la seropositividad.

El falso positivo encontrado en la prueba Rosa de Bengala, puede deberse a reacciones cruzadas, dentro de las cuales se puede citar a *E. coli* O:116 y O:157, *Francisella tularensis*, *Salmonella* serotipos Kauffman-White del grupo N, *Pseudomonas maltophilia* y *Yersinia enterocolitica* serotipo O:9, (Jonson et al., 1994; Kreig et al., 1984 citado por Huguet, 2004)

En la zona rural de nuestro país existe una baja prevalencia de Brucelosis en bovinos (=1%), lo que disminuye el riesgo de infección para esta y otras especies domésticas que se encuentren en contacto y bajo la influencia de los mismos factores externos. Por otra parte, el MAGFOR ha implementado programas de control y erradicación contra la Brucelosis bovina, que consisten en la eliminación de todos los animales infectados.

Lo antes expuesto indica que las formas de transmisión de la bacteria en la zona urbana son mínimas, a pesar de que en los barrios muestreados como Acahualinca, Santa Ana y Batahola Norte algunos de sus habitantes poseían ganado bovino y caprino siendo estos una fuente de infección para los perros.

Otro motivo por el cual no se encontró Brucelosis en el área muestreada puede atribuirse a las condiciones ambientales de la capital, donde las temperaturas son altas y el clima es seco lo que dificulta el crecimiento y transmisión de *Brucella spp* (López y Contreras, sf; Quinn, 2005).

5.1. Descripción de la población en estudio.

El porcentaje de canes bajo estudio fue del 60% en los machos y un 40% en las hembras, con una edad general promedio de 34 meses. El promedio de edad de la población muestreada fue de 31 y 39 meses para machos y hembras respectivamente.

El 58% de los canes en estudio oscilaron entre las edades de 2 a 24 meses y un 42% corresponden a canes entre 24 y 120 meses.

Cuadro 1. Porcentaje de asistencia de acuerdo a la edad.

| Edad/ meses | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje acumulado |
|------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| 2 | 3 | 3.0 | 3.0 |
| 3 | 1 | 1.0 | 4.0 |
| 4 | 2 | 2.0 | 6.0 |
| 5 | 3 | 3.0 | 9.0 |
| 6 | 5 | 5.0 | 14.0 |
| 7 | 7 | 7.0 | 21.0 |
| 8 | 7 | 7.0 | 28.0 |
| 10 | 5 | 5.0 | 33.0 |
| 11 | 1 | 1.0 | 34.0 |
| 12 | 6 | 6.0 | 40.0 |
| 18 | 4 | 4.0 | 44.0 |
| 24 | 14 | 14.0 | 58.0 |
| 30 | 2 | 2.0 | 60.0 |
| 36 | 9 | 9.0 | 69.0 |
| 48 | 7 | 7.0 | 76.0 |
| 60 | 7 | 7.0 | 83.0 |
| 72 | 7 | 7.0 | 90.0 |
| 84 | 1 | 1.0 | 91.0 |
| 96 | 3 | 3.0 | 94.0 |
| 108 | 2 | 2.0 | 96.0 |
| 120 | 4 | 4.0 | 100.0 |
| Total | 100 | 100.0 | |

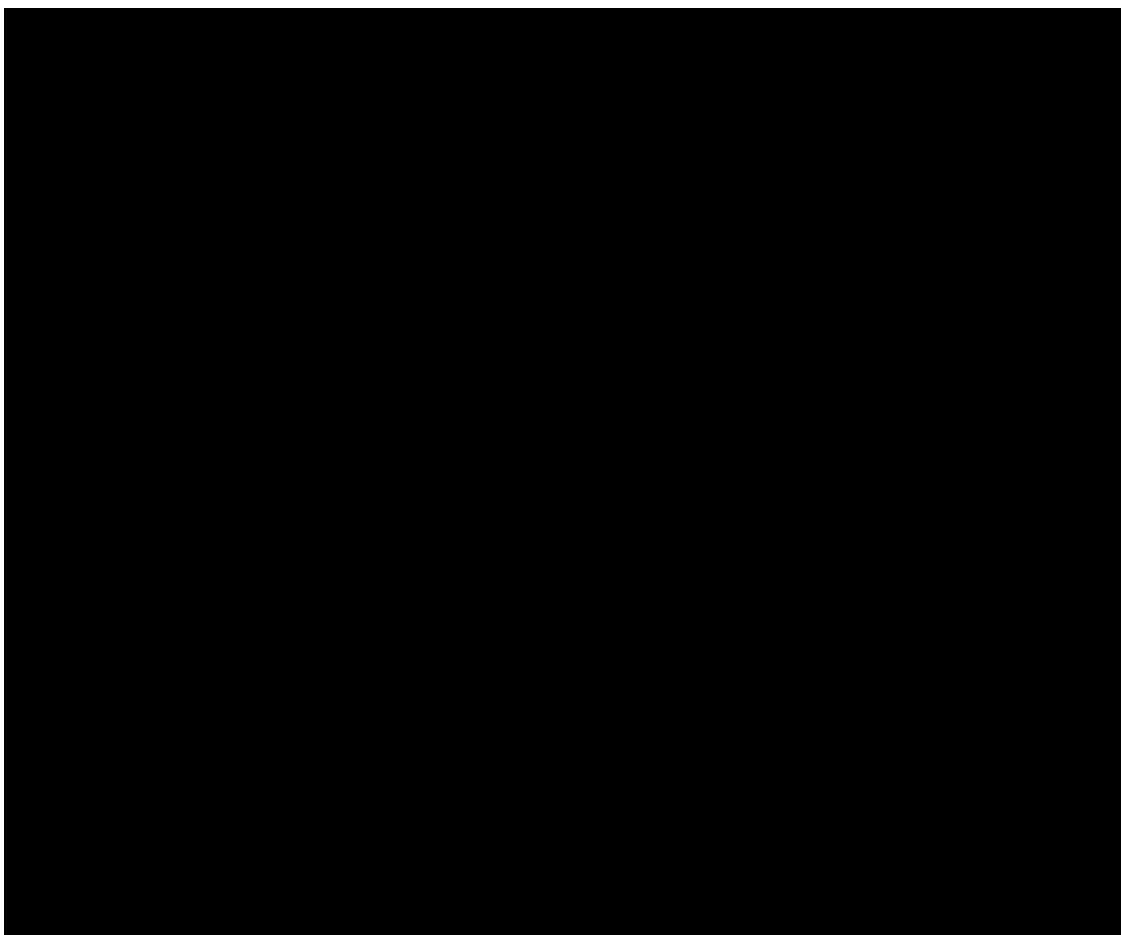
Los canes de mayor edad pertenecen a la raza Pequinés con un promedio de 67 meses de edad, seguido en orden descendente por las razas Dálmata, Pit bull, Terrier Tibetano, Daschaund y otros.

Cuadro 2. Promedio de edad según raza

| Raza | Edad/ Meses |
|---------------|-------------|
| Chow Chow | 14 |
| Cocker | 32 |
| Dálmata | 64 |
| Doberman | 24 |
| Labrador | 15 |
| SPR | 35 |
| P. Alemán | 17 |
| P. Belga | 15 |
| Pequinés | 67 |
| Pitbull | 48 |
| Rottweiler | 24 |
| Maltés | 10 |
| Terrier | 45 |
| Tibetano | |
| French poodle | 8 |
| Sharpei | 12 |
| Boxer | 19 |
| Daschaund | 36 |

De las 17 razas muestreadas el 52% de los perros corresponden a canes sin pureza racial, seguida de la raza Pequinés con un 8%, Rottwailler con 7%, Pastor Alemán con un 5% y las razas restantes pertenecen al 28% del total, con un promedio de 2% de asistencia

Gráfico 1. Porcentaje de canes según raza



El 51.6% de los machos muestreados carecen de pureza racial, mientras que el 8.3% corresponden a las razas Pequinés y Pastor alemán. El 15% pertenece a las razas Cocker Sp, Rottwailer y Doberman seguidas por las razas Pitbull, Terrier tibetano y Chow chow con un 9.9% y un 6.6% para las razas French poodle, Labrador, Maltes y Boxer. No se registró la asistencia de ningún macho en las razas Dálmata, Daschaund, Pastor belga y Sharpei.

El 52.5% de las hembras registradas no poseen pureza racial, a diferencia de la raza Rottweiler que representó el 10% y la raza Pequinés con un 7.5%. Las hembras de raza Dálmata, Terrier tibetano y Pastor belga corresponden al 15% y el 15% restante pertenece a las razas Sharpei, Labrador, Boxer, Doberman, Cocker Sp y Daschaund. No se registraron hembras de las razas French poodle, Chow chow, Pastor alemán, Maltés y Pitbull.

Cuadro 3. Porcentaje de machos y hembras según raza

| Razas | Macho | % | Hembra | % |
|---------------|--------------|------------|---------------|------------|
| Sharpei | 0 | 0 | 1 | 2.5 |
| French Poodle | 1 | 1.6 | 0 | 0 |
| Chow Chow | 2 | 3.3 | 0 | 0 |
| Labrador | 1 | 1.6 | 1 | 2.5 |
| Pastor Alemán | 5 | 8.3 | 0 | 0 |
| Pastor Belga | 0 | 0 | 2 | 5 |
| Maltés | 1 | 1.6 | 0 | 0 |
| Boxer | 1 | 1.6 | 1 | 2.5 |
| Doberman | 3 | 5 | 1 | 2.5 |
| Rottweiler | 3 | 5 | 4 | 10 |
| Cocker Sp | 3 | 5 | 1 | 2.5 |
| SPR | 31 | 51.6 | 21 | 52.5 |
| Daschaund | 0 | 0 | 1 | 2.5 |
| T. Tibetano | 2 | 3.3 | 2 | 5 |
| Pit bull | 2 | 3.3 | 0 | 0 |
| Dálmata | 0 | 0 | 2 | 5 |
| Péquines | 5 | 8.3 | 3 | 7.5 |
| TOTAL | 60 | 100 | 40 | 100 |

En el presente estudio se observó que la edad promedio mas alta en machos fue de 70 meses en la raza Pequinés, seguido de la raza Pitbull con una edad promedio de 48 meses y un promedio de 41 y 40 meses para las razas Terrier tibetano y Cocker Sp. respectivamente. Las razas restantes oscilaron en un promedio entre 6 y 31 meses.

En cuanto a las hembras, la raza Dálmata presentó una edad promedio de 64 meses siendo esta mayor que la raza Pequinés correspondiente a 62 meses. En la raza Terrier tibetano y los canes sin pureza racial se observó un promedio de 48 y 41 meses respectivamente. Las razas restantes oscilaron en un promedio entre 7 y 36 meses.

Cuadro 4. Promedio de edad según raza y sexo

| Raza | Sexo | |
|---------------|---------|--------|
| | Macho | Hembra |
| Chow Chow | Edad 14 | . |
| Cocker Sp. | Edad 40 | 7 |
| Dálmata | Edad . | 64 |
| Doberman | Edad 24 | 24 |
| Labrador | Edad 6 | 24 |
| SPR | Edad 31 | 41 |
| P. Alemán | Edad 17 | . |
| P. Belga | Edad . | 15 |
| Pequinés | Edad 70 | 62 |
| Pitbull | Edad 48 | . |
| Rottweiler | Edad 21 | 26 |
| Maltés | Edad 10 | . |
| Terrier | Edad 41 | 48 |
| Tibetano | | |
| French poodle | Edad 8 | . |
| Sharpei | Edad . | 12 |
| Boxer | Edad 7 | 30 |
| Daschaund | Edad . | 36 |

5.2. Pruebas diagnósticas utilizadas en el estudio

La prueba de Rosa de Bengala, es rápida y de fácil ejecución, es un método poco específico y produce muchos falsos positivos, si se usa como prueba única y definitiva, es por esta razón que se utiliza como prueba tamiz. Los animales con resultado negativo se consideran como tales y los de resultado positivo son sometidos a otras pruebas confirmatorias (Acha y Szyfres, 2001).

Para la elección de esta prueba diagnóstica se tomó en cuenta por ser una prueba altamente sensible, de bajo costo, de mayor eficacia de diagnóstico, posibilitando estrategias de control de *Brucella spp.* en menor tiempo. La prueba de rosa de Bengala es considerada como prueba tamiz y aplicada en casi todos los países sudamericanos. Por tanto, es capaz de identificar y seleccionar una población en riesgo. (Megid et al., 2000 citado por Huguet, 2004). Además de poseer una sensibilidad y especificidad de 96.2% y 95.8% (Davies, 1971 citado por Huguet, 2004).

Una de las principales pruebas complementarias a la prueba tamiz es la de Rivanol (Acha y Szyfres, 2001; Morilla y Tercero, 1997). La cual además de ser un método rápido, de bajo costo y de mayor disponibilidad en nuestro país, razones por las cuales se escogió como prueba confirmatoria.

5.3. Estudios similares realizados en otros países

La prevalencia de brucelosis encontrada en el presente trabajo fue del 0%, igual que Kied, *et al* (2007) en cuyo estudio muestreó a 52 perros de criaderos comerciales encontrándose ningún reactor al método de Rosa de Bengala. En la investigación realizada por Sandoval (2008) a 84 sueros de canes en la ciudad de Chillan, Chile analizados por el método de Rosa de Bengala obtuvo 1.2% (1/84) de prevalencia.

Otro estudio realizado por García (1994) en Venezuela, determinó la prevalencia de brucelosis canina encontrándose un 0% en la zona urbana. Un aspecto importante de este trabajo se atribuye a que el 1.64% (6/365) de prevalencia encontrada correspondían a cuatro hembras adultas, un macho joven y un macho adulto provenientes todos de la zona rural del lugar de estudio.

Recientemente en la ciudad de León (2007) se realizó una investigación por Molina para determinar la seroprevalencia de brucelosis en caninos de la zona urbana y suburbana, para la cual se tomó una muestra de 323 caninos obteniendo un reactor correspondiente al 0.3% de seroprevalencia en la población total muestreada.

Este bajo porcentaje de prevalencia en los cinco estudios mencionados, puede estar justificado por que la muestra fue tomada de zonas urbanas donde disminuye el riesgo de infección, ya que los canes no se encuentran en contacto con otras especies.

Lo anterior es justificado por Forbes (1990 citado por Aguiar, 2005) quien afirma, que los canes de las zonas rurales presentan mayor susceptibilidad a contraer brucelosis por *Brucella abortus* pues estos están en contacto con bovinos.

Los resultados del presente estudio difieren por lo encontrado por Molina (2007) donde se analizó una muestra de 323 canes por el método Rosa de Bengala obteniendo un resultado de 0.3% (1/323). Debido a que no se realizó un método de confirmación que ratifique su resultado.

Ramírez (2005) en su estudio utilizó el método Inmunodifusión en gel de agar con antígeno específico de *Brucella ovis* obteniendo como prevalencia un 15.6%. La diferencia asociada con la presente investigación puede atribuirse a la técnica diagnóstica utilizada. Esta técnica emplea un antígeno que contiene un lipopolisacárido rugoso, específico para *Brucellas* rugosas y que no da reacciones cruzadas con otras especies de *Brucella* en su forma lisa.

Estudios similares realizados en otras especies domésticas demuestran la baja prevalencia de brucelosis. Como por ejemplo una investigación en caprinos en Lima, Perú por Garro (2004) en el cual de un total de 392 cabras muestreadas procedentes de los cuatro distritos de la provincia de Barranca, no se detectó ningún animal reactor a la prueba de Aglutinación Rosa de Bengala.

Otro ejemplo es el estudio realizado por Huguet (2004) en Lima, Perú analizó 486 sueros de bovinos. Encontrando dos reactores al método Rosa de Bengala los cuales fueron sometidos a confirmación mediante el método de Fijación de Complemento obteniendo solo un reactor que representa una prevalencia del 0.21%.

El contagio de brucelosis no solo está limitado a los animales domésticos como lo demuestra un estudio realizado en la provincia de Córdoba y Jaén en Artiodactilos salvajes (ciervo, gamo, jabalí). Utilizando la técnica de Fijación de Complemento fueron analizados 58 sueros de jabalí, 40 de gamo y 85 de ciervo obteniendo como resultado dos ciervos positivos provenientes de la provincia de Córdoba.

Se presume que la fuente de infección se debe al compartir las zonas de pastos de los ciervos con cabras afectadas con *Brucella mellitensis* (Ministerio de Agricultura, 1977).

Es importante resaltar que la brucelosis es una enfermedad zoonótica que puede transmitirse al hombre presentándose casos en México, desde hace ya varios años.

La brucelosis se presenta tanto en población rural como urbana, de ambos sexos, económicamente activa, entre 20 y 45 años de edad con mayor número de casos en mujeres. Los niños de alrededor de 10 años son una población en riesgo creciente. La mortalidad reportada es de alrededor de 30 casos anuales (López y Contreras, sf).

En la ciudad de Sao Paulo en 1980 se realizó un estudio por Akao quien analizó por la prueba de seroaglutinación lenta en tubo 330 sueros humanos obteniendo cuatro reactores que representa una prevalencia de 1.21%.

En la zona rural de la Montaña de Cataluña en el noreste de España se analizaron 62 pacientes que habían estado expuestos al microorganismo de los cuales a 24 se les realizó la prueba de Rosa de Bengala con un porcentaje de seropositividad del 8.3% y los 38 restantes por el medio de hemocultivo logrando aislar *Brucella spp.* en un 95.2%. (Serra Y Viña, 2004).

Es importante señalar que no en todos los casos habrá infección sintomática de la enfermedad, como sucede en la afección por *B. canis* que se considera usualmente benigna, *B. abortus* provoca enfermedad moderadamente grave (Quinn, 2005) y *B. melitensis* es la especie más virulenta y está asociada a una enfermedad aguda severa. Es la que más se notifica como causa de enfermedad, se aísla con mayor frecuencia de los casos humanos (López y Contreras, sf).

VI. CONCLUSIONES

1. A través de los métodos empleados se determinó una prevalencia del 0% en la población canina muestreada.
2. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que los perros en estudio se encuentran libre de Brucelosis canina.
3. En el presente estudio no se encontró relación entre la positividad a *Brucella spp.* con respecto raza, sexo y edad debido a la ausencia de la enfermedad.
4. En la zona rural de nuestro país existe una baja prevalencia de Brucelosis en otras especies doméstica como los bovinos = 1%, disminuyendo las probabilidades de contagio en los perros.
5. Las condiciones climáticas de la capital dificultan el crecimiento y la transmisión de *Brucella spp* razón por la cual justifica la ausencia de la enfermedad.
6. En los canes en estudio no se encontró la presencia de *Brucella spp.* a pesar de que en los barrios Acahualinca, Santa Ana, y Batahola Norte se observó ganado bovino y caprino, siendo estas una fuente de transmisión de Brucelosis para los canes.

VII. RECOMENDACIONES

A los propietarios:

- Brindar control veterinario y reproductivo a sus mascotas.
- Reportar al MINSA en caso de aborto en su perra para realización de pruebas correspondientes.
- Evitar que los perros realicen paseos sin supervisión.
- Realizar desinfecciones periódicas con amonio cuaternario y soluciones yodadas en el lugar donde se encuentra el animal.

A los médicos veterinarios:

- Tomar todas las medidas de bioseguridad (partos, trastornos reproductivos, inspección de aparato reproductor) para evitar ser vehículo en la transmisión de la bacteria.
- En caso de que se sospeche la de la enfermedad se deben eliminar camas, utensilios de agua y de comida, juguetes etc.
- Los animales sospechosos de padecer la enfermedad se deben aislar de los animales potencialmente en riesgo.
- A los animales enfermos se debe realizar monitoreo anual y de rutina.
- En el caso de laboratoristas evitar las infecciones accidentales mediante la utilización de guantes, bata, tapaboca.

A las autoridades correspondientes:

- Los programas de control y erradicación de Brucelosis del MAGFOR no solo se dirijan a la zona rural ni a la eliminación de bovinos infectados, sino que incluyan otras especies domésticas y todas las formas de transmisión.
- Elaborar campañas para concientizar a la población acerca de la existencia de esta enfermedad y como prevenirla, a través de afiches, volantes, perifoneo, medios televisivos, radiales, charlas, etc.
- Realizar estudios en perros de la zona rural de nuestro país y en otras especies además de los bovinos.
- Castración de todos los perros errabundos debido a que pueden ser fuentes de diseminación de la enfermedad por la falta de control reproductivo.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acha, P.; Szyfres, B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Bacteriosis y micosis. 3ed. Washington, US.
- Aguiar, D.; Cavalcante, G.; Vasconcellos, S.; Megid, J; Salgado, V.; Cruz, T.; Labruna, M.; Pinter, A.; Ramos, J.; Moraes, Z.; Aranha, L.; Gennari, S. 2005. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do município de Monte Negro, Rondonia, Brazil. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, (en línea) BR. Consultado 03 Feb 2009. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=33135539>
- Akao, M. 1980. Pesquisa de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos na cidade de São Paulo, Brasil. Departamento de Patologia e Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - Cidade Universitária - 05508. (en línea) SP - BR. Consultado 03 Feb 2009. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101980000300011&lng=en&nrm=iso
- Borie, C.; Pinochet, L. 1987. Brucelosis canina: Conceptos generales y estudios realizados en el país. Monografías de Medicina Veterinaria, Vol.9 (2), (en línea) Chile. Consultado 20 Oct 2007. Disponible en http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_simple/0,1420,SCI
- Casanova, E.; Cepero, O.; Salado, J.; Castillo, J.; Rodríguez, E. 1997. Brucelosis. (en línea). Cuba. Consultado 09 de Oct 2007. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos25/brucellosis/brucellosis.shtml#diagn>
- Delgado, C. 1978. Prevalencia de Brucelosis en bovino en los departamentos de Boaco, Chontales y Matagalpa. Trabajo profesional de Ingeniero Agrónomo. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. Universidad Nacional Agraria. NI.

- Díaz, E.; Hernández, L.; Ochoa, V.; Blasco, J.; Suarez, F.; 1999, Evaluación de la prueba de Rivanol para el diagnóstico de Brucelosis en caprinos. (en línea). México. Consultado 15 Oct 2008. Disponible en <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol31-01/RVM31108.pdf>
- García, C., 1994. Epidemiología de la Brucelosis Canina. Tesis para optar al título de Magister Scientiarum en Medicina Veterinaria, mención: Patología Veterinaria. Universidad Central de Venezuela. (en línea). Venezuela. Consultado 15 Oct 2008. Disponible en http://www.bibliofcv.veter.ucv.ve/cgiwin/be_alex.exe?acceso=T040500003780/0&Nombrebd=Bfcv_ucv&ForReg=http://bibliofcv.veter.ucv.ve/&Regini=81
- Garro, E. 2004. Prevalencia de brucelosis caprina en la provincia de Barranca departamento de Lima. Tesis para optar al título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (en línea). Perú. Consultado 23 Ene 2009. Disponible en http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2004/garro_ae/html/index-frames.html
- Greene, C.E.; Origaza Samperio, J.; Pérez Gómez, J. 2002. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Editorial McGraw Hill Interamericana. 2 ed. p. 274-283.
- Horst, S. 1998. Sanidad en los trópicos. Edit. Hemisferio sur. Gottingen, Al. P 268.
- Hugueta, C. 2004. Determinación de *Brucella ssp.* En bovinos de la provincia de Canta-Lima. Tesis para optar al título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (en línea). Perú. Consultado 23 Ene 2009. Disponible en. http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2004/hugueta_tc/html/index-frames.html

- INETER, 2008. Meteorología en Nicaragua. (en línea). Nicaragua. Consultado 5 Jul 2008. Disponible en <http://ineter.gob.ni/Direcciones/meteorologia/clima%20nic/caracteristicasdelclima.html>
- Keid, L.; Soares, R.; Vasconcellos, S.; Chiebao, D.; Megid, J.; Salgado, V.; Richtzenhain, L. 2007. Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Brucella canis* in Semen of Naturally Infected Dogs. Theriogenology . (en línea). Consultado 03 Feb 2009. Disponible en <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=18685221>
- Kunkel, D. 2004. *Brucella abortus* - coccobacillus prokaryote (bacterium). Estados Unidos. Consultado 11 Feb 2009. Disponible en <http://patric.vbi.vt.edu/organism/overview.php?organismId=1>
- López, A. Contreras, A. sf. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. (en línea). México. Consultado 16 Jun 2008. Disponible en <http://biblioweb.unam.mx/libros/microbios/Cap7/>
- MANFUT. sf. Ciudad de Managua, Nicaragua Características Distritales; Distrito II. (en línea). Nicaragua. Consultado 20 Oct 2007. Disponible en <http://www.manfut.org/managua/barrios/Distrito2.html>
- Ministerio de Agricultura. 1977. Recientes Aportaciones Veterinarias sobre Brucelosis. Ed. Servicio de Publicaciones Agrarias. ES. 230 p.
- Molina, R., 2007. Seroprevalencia frente a *Brucella abortus* en caninos de la zona urbana y suburbana de León en el año 2007 mediante la técnica de Rosa de Bengala. Tesis para optar al grado de licenciado en Medicina Veterinaria. UNAN-León. NI.
- Montes, I. sf. Diagnóstico de la Brucelosis. (en línea). España. Consultado 20 Mayo 2008. Disponible en http://www.seimc.org/control/revi_Sero/diagbruce.htm

- Morilla, A. Tercero, M. 1997. Ministerio de Agricultura y Ganadería Red Nacional de Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Dirección de Salud Animal. Manual de Normas y Procedimientos para Inmunodiagnóstico. Consultor IICA- GTZ. Managua, NI.
- Nicolet, J. 1985. Compendio de bacteriología médica veterinaria. Edit. Acribia. Saragoza ES. p 82-89.
- Ortez, E.1978. Brucelosis porcina. Trabajo especial para optar al título de Agrónomo y técnico en veterinaria. Escuela de agricultura y ganadería Esteli. NI. P 3, 4,5.
- Quinn, P.; Markey, B.; Carter, M.; Donnelly, W.; Leonard, F. 2005. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Edit Acribia. Zaragoza, ES. 615p.
- Ramírez, H. 2005. Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la Provincia Constitucional del Callao. Revista de investigaciones veterinaria del Perú. (en línea). Perú. Consultado 28 Mar 2008. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000100007
- Real Academia Española. 2001. Diccionario de la lengua española. 22ª ed. (en línea). España. Consultado 28 Feb 2009. Disponible en http://www.buscon.rae.es/draeI/SrvltConsulta?TIPO_BUS=3&LEMA=cultura
- Rivers, R., Andrews, E., González-Smith, A., Donoso, G. Oñate, A. (sf). Laboratorio de Inmunología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción, Casilla 160-C, (en línea). Chile. Consultado 07 Nov 08. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos902/brucella-abortus-prevencion/brucella-abortus-prevencion2.shtml>

- Royalcanin Publications 2006. Brucelosis canina; trastornos de la reproducción. Consultado en 11 Feb 2009. Disponible en <http://publications.royalcanin.com/renvoie.asp?type=1&cid=124204&id=102472&com=6&animal=0&lang=5&session=6902940>
- Samartino, L.; Schust, M.; Piazza, E.; Salustio, E; Conde, S. 2007. Diagnóstico de la brucelosis animal: Implementación de nuevas tecnologías. INTA, CICV, Instituto Patobiología, CC 77 Moró. Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15 (Supl. 1). XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú. (en línea). Argentina. Consultado en 16 de Nov 2008. Disponible en http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015%20Supl/p_samartino.pdf
- Sánchez, (sf). Brucelosis canina y sus implicancias reproductivas. (en línea). Chile. Consultado 03 Abr 2008. Disponible en <http://www.mevepa.cl/modules.php?name=News&file=article&sid=760>
- Sandoval, I. 2008. Detección de anticuerpos séricos anti *Brucella ssp.* en caninos de la ciudad de Chillan. Memoria de título presentada a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción para optar al título de Médico Veterinario. (en línea). Chile. Consultado 23 Ene 2009. Disponible en http://www.bibliodigital.udec.cl/sdx/UDEC/tesis/2008/sandoval_i/html/index-frames.html
- Serra, J. y Viñas, M. 2004. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain. Vol, 7, no, 1. (en línea). España. Consultado 03 Feb 2009. Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-67092004000100008&lng=en&nrm=iso
- Sodikoff, C .Harourt, H. 2002. pruebas diagnósticas y de laboratorio en pequeños animales una guía para diagnóstico de laboratorio. 3 ed. P 148.
- Stanchi, N.; Martino, P.; Gentilino, P.; Reinoso, E.; Echeverria, N. 2007. Microbiología Veterinaria. Edit. Inter-médica. Buenos Aires, AR. 594 P.

- Thrusfield, M. 1990. Epidemiologia veterinaria. Castillo, J. y García, J. Edit. Acribia. ES. p42.

ANEXOS

1. *Brucella abortus*



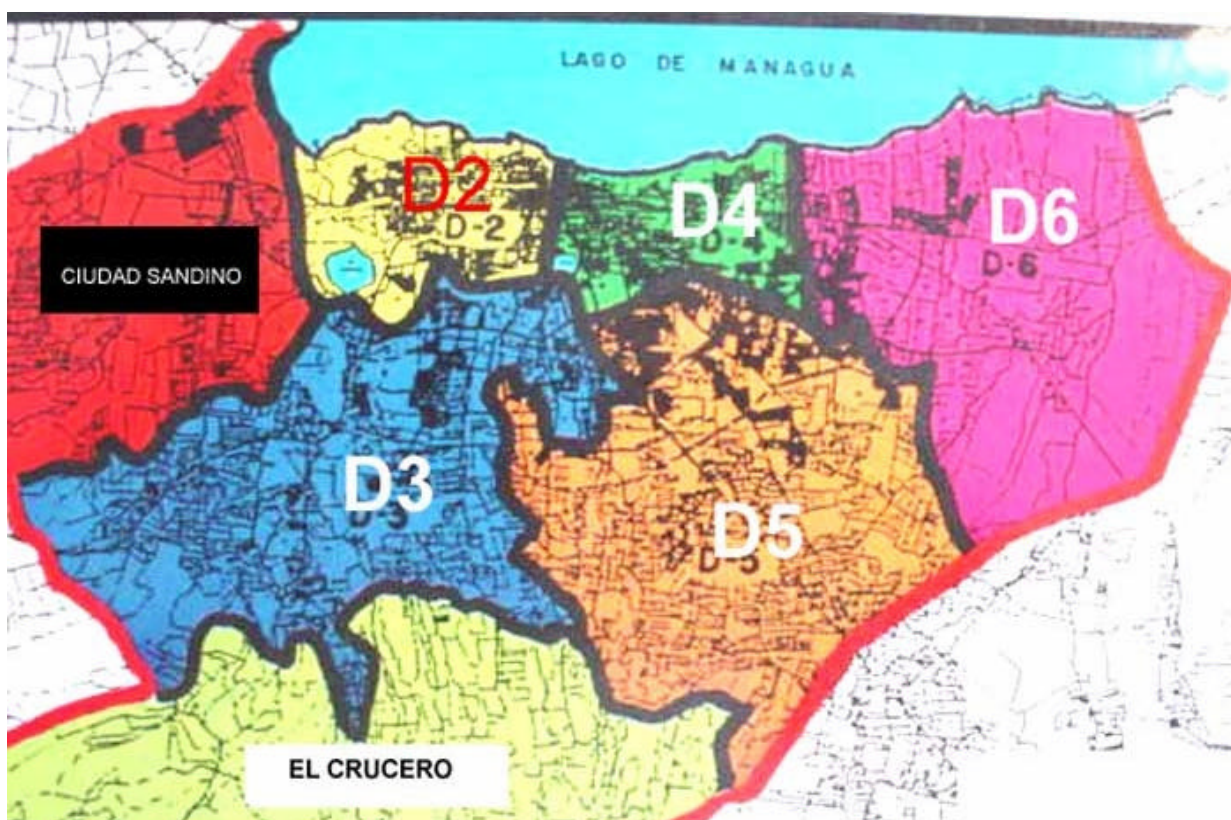
Fuente: Kunkel, 2004.

2. Aborto tardío de origen brucélico



Fuente: Royal canin Publications 2006.

3. Mapa de Managua



Fuente: Manfut , sf.

4. Población canina por barrio

| Barrio | Población canina | Nº de canes muestreados |
|------------------|------------------|-------------------------|
| Monseñor Lezcano | 766 | 10 |
| Las palmas | 113 | 12 |
| San Sebastián | 678 | 14 |
| El Bóer | 758 | 13 |
| San José | 525 | 7 |
| Achualinca | 1177 | 12 |
| Batahola N. | 925 | 13 |
| Santa Ana N. | 507 | 19 |
| Total | 5449 | 100 |

Fuente: Rayo y Sánchez; 2008

5. Datos generales de canes muestreados

| | Sn José | Sta. Ana Norte | Las Palmas | Sn Sebastián | Bóer | Acahualinca | Batahola Norte | Monseñor Lezcano |
|-------------------|---------|----------------|------------|--------------|------|-------------|----------------|------------------|
| Razas | | | | | | | | |
| Chow chow | | 1 | | | | 1 | | |
| Cocker sp | 2 | 1 | | 1 | | | | |
| Dálmata | | 1 | | | 1 | | | |
| Doberman | | 1 | | | | | 3 | |
| Labrador | | 1 | 1 | | | | | |
| SPR | 2 | 8 | 6 | 8 | 9 | 7 | 7 | 5 |
| P Alemán | 2 | 1 | | | | 2 | | |
| P Belga | | 1 | | | 1 | | | |
| Pequinés | | 2 | | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| Pitbull | | | 1 | | | | | 1 |
| Rottwailer | | 1 | 2 | 1 | 1 | | 1 | 1 |
| Maltés | | | 1 | | | | | |
| Terrier tibetano | 1 | 1 | 1 | | | | | 1 |
| French poodle | | | | | | | 1 | |
| Sharpei | | | | 1 | | | | |
| Boxer | | | | 2 | | | | |
| Dachshund | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | |
| Sexo | | | | | | | | |
| Macho | 5 | 9 | 7 | 10 | 8 | 8 | 8 | 4 |
| Hembra | 2 | 10 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 6 |
| | | | | | | | | |
| Edad (año) | | | | | | | | |
| 0-1 | 3 | 8 | 4 | 3 | 3 | 3 | 5 | 4 |
| 1-2 | | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | |
| 2-3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 3-4 | 1 | 1 | 1 | | 2 | 3 | | 1 |
| 4-5 | | | 2 | 3 | | | 3 | 1 |
| 5-6 | | | | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| 6-7 | | 1 | | 6 | 1 | | 1 | 1 |
| 7-8 | | 1 | | | | | | |
| 8-9 | 1 | 2 | | | 1 | | | |
| 9-10 | | | | | 2 | 2 | | 1 |

7. Extracción de la muestra de sangre



8. Centrifugación de la muestra



9. Identificación del suero



10. Solución Rosa de Bengala



11. Homogenización de la solución antígeno-suero



12. Mezcla de la solución antígeno-anticuerpo en placa de vidrio



13. Reacción de muestra positiva y negativa



14. Solución de Rivanol

