

BRUCELOSIS CAUSADA POR *BRUCELLA CANIS*

RICARDO FLORES CASTRO

*Departamento de Bacteriología
Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. S.A.R.H.
Palo Alto, México 20, D. F.*

L. E. CARMICHAEL

*James A. Baker. Institute for Animal Health
Cornell University. Ithaca, N. Y. 14853, USA.*

I. Introducción	178
II. Características del agente etiológico	179
1. Morfología y cultivo	179
2. Propiedades bioquímicas	180
3. Características antigénicas	181
III. Especies susceptibles	183
1. La infección natural	183
2. La infección experimental	184
3. Animales silvestres susceptibles	184
IV. Transmisión	185
V. La enfermedad en animales	186
1. Características clínicas	186
2. Patogénesis	186
3. Patología	187
VI. La enfermedad en el hombre	188
VII. Diagnóstico	188
VIII. Inmunidad y prevención	191

IX. Tratamiento	192
X. Control	193
Referencias	193

I. Introducción

Durante los últimos 25 años se ha producido en varios países, especialmente Estados Unidos, un notorio incremento en el número de criaderos de perros, altamente tecnificados, en los que existen sistemas adecuados para el registro de producción. Esto ha propiciado la identificación de enfermedades que hasta entonces habían pasado desapercibidas; tal es el caso de la infección causada por *Brucella canis* (*B. canis*). Esta bacteria fue cultivada por primera vez en 1966, a partir de tejidos fetales procedentes de criaderos en los que ocurrían brotes severos de aborto epizootico (1, 3, 4). Desde entonces este microorganismo se ha aislado de muestras de perros de casi todos los estados de Estados Unidos (3, 8, 46) y en muchos otros países, incluyendo Japón, Alemania, Brasil, Checoslovaquia, Madagascar, México y recientemente Argentina (9, 38, 40, 47, 50, 67). Además existen evidencias serológicas de la infección en Perú y Túnez (51, 52).

Lo anterior sugiere que *B. canis* esta ampliamente distribuida, con variaciones en la prevalencia dependiendo de las características de la población en cuestión. Estudios serológicos realizados en Japón demostraron que la infección ocurre tanto en los perros de criaderos como en los perros callejeros, encontrándose que en el área de Tokio la prevalencia fue de aproximadamente 3.6% (53). Los diferentes estudios realizados en Estados Unidos revelaron cifras que fluctúan entre 1 y 6% de prevalencia, siendo ésta mayor en el sur del país (21, 12, 14, 37, 44, 54). En México la enfermedad se diagnosticó por primera vez en 1974, mediante el aislamiento de *B. canis* a partir de sangre de perros callejeros (40). Estos estudios revelaron que la infección se encuentra ampliamente difundida entre los perros callejeros de la ciudad de México y su periferia, encontrándose que de 500 perros muestreados al azar 28% tenía títulos de anticuerpos aglutinantes en niveles de 1: 00 o superiores y en ocho de estos animales se logró aislar *B. canis* a partir de muestras de sangre. La elevada prevalencia obtenida en esta investigación, en contraste con las cifras obtenidas en otros países, sugirió que un considerable porcentaje de reacciones podría deberse a la existencia de infección con otros gér-

menes capaces de inducir reacciones cruzadas; sin embargo, los estudios realizados en 1976, en los que se sacrificaron los perros reactivos con el fin de intentar el aislamiento de la *B. canis*, confirmaron que esta bacteria se encuentra con mucha frecuencia infectando perros callejeros del Distrito Federal, puesto que se logró aislar en cultivos puros de los tejidos en 6 de 59 perros estudiados (10.2%). En 22 de estos animales (37%) se demostraron títulos elevados de anticuerpos (66).

Existen publicaciones que describen la infección por *B. canis* en el hombre (5, 17, 20); sin embargo, es escasa la información referente al verdadero significado de la enfermedad desde el punto de vista de Salud Pública. Los estudios serológicos practicados en las muestras de 203 pacientes seleccionados al azar, en el Hospital General de México, revelaron un 13.3% de reactivos positivos, con títulos de aglutinación superiores a 1: 200 (40); con todo, hasta la fecha en México no se ha logrado aislar *B. canis* en el hombre.

Los datos de prevalencia descritos en relación con la población de perros callejeros en la ciudad de México muestran la necesidad de prestar un mayor interés a la brucelosis causada por *B. canis*, la cual podría representar un verdadero problema desde el punto de vista de zoonosis, especialmente si se considera que el número de perros callejeros en esta ciudad alcanza proporciones alarmantes. En el presente trabajo se describen las características de la bacteria y la enfermedad que causa en los animales y en el hombre. Además se discuten diferentes aspectos relacionados con los problemas de diagnóstico y de control.

II. Características del agente etiológico

1. Morfología y cultivo

La *B. canis* es un cocobacilo gram negativo pequeño, con propiedades similares a las de los otros miembros del género (2, 4, 22, 29). Se desarrolló en aerobiosis creciendo bien en medios enriquecidos como Albimi, Triptosa y Tripticasa Soya Agar, así como en medio de Agar base con 5% de sangre de borrego. Los medios selectivos de Kuzdas-Moorse y Thayer-Martin han sido empleados con éxito para aislar la bacteria en muestras contaminadas (66). El crecimiento se hace aparente después de 48 a 72 horas de incubación a 37⁰ C; en este tiempo las colonias son muy pequeñas, 1 a 5 mm, translúcidas y

sumamente mucoides. Aún no se ha descrito el aislamiento de colonias en fase lisa. El crecimiento en medios líquidos se caracteriza por presentar un aspecto de cordón. I

2. Propiedades bioquímicas

B. canis posee propiedades bioquímicas muy similares a las de *B. suis*, biotipos 3 y 4 (10, 22, 24, 36), razón por la cual diferentes autores han sugerido que este germen sea considerado como un biotipo más de *B. suis* en lugar de ser incluido como una especie diferente. Estudios sobre patogenicidad han demostrado que los porcinos son sumamente resistentes a *B. canis* y que en perros la infección ocurre fácilmente produciendo una enfermedad bien definida; los perros son al parecer el único huésped natural (9, 10, 22, 26, 37). Otra notable diferencia es la característica mucóide de *B. canis*. En la actualidad la clasificación de este germen como especie independiente es aún provisional (9). La inclusión de esta bacteria dentro del género *Brucella* se vio favorecida por los estudios de ADN, los que mostraron homologías en sus bases G-C similares a los otros miembros del género (25). Los mismos estudios sugirieron que *B. ovis* es una bacteria que sufrió la pérdida de algunos pares de bases, pues carece de segmentos de ADN que sí están presentes en las otras brucelas.

La capacidad de las brucelas de crecer o ser inhibidas por cantidades variables de fucsina básica y/o tionina es característica importante para la identificación preliminar de las diferentes especies del género y sus respectivos biotipos. Propiedades adicionales consideradas de tipo convencional para este fin incluyen la necesidad de crecer en presencia de CO₂, producción de H₂S, hidrólisis de urea, susceptibilidad a sufrir lisis por el fago Tb y capacidad de aglutinar sueros monovalentes A,M o anti-R (24,28,70). Otros procedimientos importantes en la clasificación de especies y biotipos es la determinación de su metabolismo oxidativo (23). Actualmente existen varios biotipos reconocidos entre las especies de *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*, pero no se han descrito biotipos de *B. Ovis* o *B. canis*. En investigaciones recientes realizadas en la Universidad de Cornell se encontró que de 30 cepas de *B. canis* estudiadas, cinco fueron capaces de crecer en medios que contenían fuertes concentraciones de fucsina básica, mientras que la cepa internacional de referencia (cepa RM6-66) y los otros 24 cultivos fueron totalmente inhibidos por este colorante.

Además en estudios de metabolismo oxidativo se observó que algunas de estas cepas utilizaron el i-erythritol, el cual no es utilizado por la cepa de referencia. En un artículo previamente publicado (38) se describe el aislamiento de una cepa (D519) que también fue resistente a la fucsina básica y utiliza i-erythritol. Esto sugiere la posibilidad de que existan por lo menos dos diferentes biotipos de *B. canis*; sin embargo, faltan aún más pruebas para poder llegar a esa conclusión. En los cuadros 1 y 2 se presentan las principales características de *B. canis* en comparación con otras especies.

CUADRO 1

CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE ALGUNAS ESPECIES DE
BRUCELLA (1)

<i>Especie</i>	<i>Requerimiento de CO₂</i>	<i>Producción de H₂S</i>	<i>Producción de ureasa</i>
<i>Brucella melitensis</i>	-	-	variable
<i>Brucella abortus</i>	+a	+b	++
<i>Brucella suis</i>	-	++b	+++
<i>Brucella neotomae</i>	-	+	+++
<i>Brucella ovis</i>	+	-	-
<i>Brucella canis</i>	-	-	++++

a Algunos biotipos no requieren CO₂

b Algunos biotipos no producen H₂S.

3. Características antigénicas

La *B. canis* posee en común con las otras especies del género, numerosos antígenos somáticos, los cuales pueden demostrarse fácilmente mediante estudios de inmunodifusión en gel, con antígenos solubles extraídos mediante la ruptura de las células con ultrasonido o con otros métodos; sin embargo, la naturaleza mucoide (rugosa)

confiere a la pared celular de *B. canis* propiedades antigénicas diferentes de las de las cepas lisas de otras brucelas, por lo cual las técnicas altamente estandarizadas que se utilizan para el diagnóstico de brucelosis en otras especies no pueden usarse en el diagnóstico de infecciones causadas por *B. canis* (30). Por el contrario, se han demostrado reacciones cruzadas de aglutinación y precipitación entre *B. canis* y otras brucelas en fase rugosa, como *B. ovis* y *B. abortus* cepa 45/20; de igual manera se producen reacciones cruzadas entre *B. canis* y algunas otras bacterias gram negativas en fase rugosa, como *Acinetobacter bronchisepticus* (antes *Bordetella bronchiseptica*), *Actinobacillus equuli* (22, 24, 31, 33) y recientemente con *Pseudomonas aeruginosa* (68).

CUADRO 2

CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE ALGUNAS ESPECIES DE
BRUCELLA (11)

Crecimiento en medios con							
Especie	Tionina			Fucsina básica		Lisis por el fago	
	a	b	c	b	c	DRP 10 000 X DRP	
<i>Brucella melitensis</i>	-	+	+	+	+	-	-
<i>Brucella abortus</i>	-	-d	-d	+	+	+	+
<i>Brucella suis</i>	+	+	+	-d	-d	-	+
<i>Brucella neotomae</i>	-	-	+	-	-	-	+
<i>Brucella ovis</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>Brucella canis</i>	+	+	+	-	+-	-	-

a Colorante en concentración 1: 25,000.

b Colorante en concentración 1: 50,000

c Colorante en concentración 1: 100,000.

d Algunos biotipos positivos.

DRP. Dosis de rutina para prueba.

La similitud antigénica existente entre *B. canis* y *B. ovis* propició el desarrollo de la prueba rápida de aglutinación en placa, para el diagnóstico de *B. canis* empleando un antígeno elaborado con una cepa de *B. ovis* y teñido con rosa de Bengala. *B. ovis* se ha empleado también para extraer antígenos solubles con el fin de usarlos en pruebas de inmunodifusión. (31, 33, 35). El hecho de que los antígenos rugosos (R) puedan ocasionar reacciones inespecíficas con antígenos presentes en otros microorganismos, generalmente también presentes en forma rugosa, acarrea ciertas dificultades en el diagnóstico (36) las cuales serán discutidas con más detalle en la sección correspondiente a diagnóstico.

Diferentes investigadores han señalado que la *B. canis* no posee endotoxina de tipo lipopolisacárido (LPS) que está presente en otras brucelas en fase lisa; sin embargo, estudios recientes revelaron que algunos extractos de pared celular de *B. canis*, al ser inoculados en perros por vía subcutánea, causaron una respuesta febril, acompañada con alteraciones en las cuentas leucocitarias similares a las inducidas por las endotoxinas de otros gérmenes gram negativos, sugiriendo la existencia de endotoxinas en *B. canis* (68).

III. Especies susceptibles

1. La infección natural

La enfermedad natural se ha identificado únicamente en perros y ocasionalmente en el hombre. Sólo los perros son capaces de transmitir la enfermedad. En un principio se pensó que los Beagles eran la única raza susceptible, pero actualmente se sabe que otras razas, así como mezclas de razas, pueden sufrir la infección natural (1, 8, 11, 13, 39, 40). En el hombre la enfermedad es leve y se cree que ocurre en forma accidental hasta el momento son pocos los casos de infección confirmados en él; y la mayoría de ellos corresponden a infecciones en personal de laboratorio expuesto a dosis masivas de bacterias, o bien, a personas con estrecho contacto con perros infectados (5, 17,20).

2. *La infección experimental*

La infección experimental se ha investigado en ratones, conejos, ratas y cobayos. En contraste con las especies clásicas de brucela, *B. canis* es poco virulenta en estos animales, aun cuando la inoculen con dosis fuertes y por diferentes vías (22, 41).

La inoculación intraperitoneal en conejos produce orquitis y formación de abscesos peritoneales (22). Los bovinos y porcinos son sumamente resistentes a la inoculación por vía oral y conjuntival; sin embargo, los ovinos gestantes y no gestantes, expuestos por vía conjuntival, desarrollan una leve infección, asintomática y de bacteremia e inducen formación de anticuerpos en bajas concentraciones (42).

3. *Animales silvestres susceptibles*

La enfermedad ha sido poco estudiada en animales silvestres. Las zorras rojas (*Vulpes vulva*) desarrollan bacteremia durante las 4 o 5 semanas siguientes a la inoculación por vía oral, la cual persiste por lo menos durante 14 semanas y ocurre acompañada de títulos elevados de aglutininas (42). Las lesiones que se producen en esta especie son similares a las que se presentan en perros.

La infección experimental en monos (*Macaca aractoides* y *Macaca mulatta*) ha sido ampliamente descrita (43, 44). Las lesiones en estos animales consisten principalmente en hepatitis con focos granulomatosos, esplenitis y linfadenitis (43). En *M. aractoides* se produjo bacteremia durante cinco semanas y la bacteria no se pudo recobrar siete semanas después de la inoculación. En contraste con los perros la inoculación de monos por vía oral y conjuntival no produce lesiones en el tracto genital.

Estudios serológicos realizados en carnívoros silvestres revelaron que la prevalencia en estos animales es baja (45). En 766 sueros de carnívoros silvestres se encontraron resultados negativos; entre los animales estudiados se incluyeron zorrillos, zorros grises y lobos; en contraste, se obtuvieron títulos significativos de anticuerpos en sueros de gato montes, zorra roja y coyote. Hasta el momento no se ha logrado el aislamiento de *B. canis* de casos de infección natural en animales silvestres.

IV. Transmisión

En la mayoría de los casos la infección por *B. canis* ocurre por vía oral mediante la ingestión de productos contaminados, como lo son placentas y fetos abortados (2, 8, 44, 55, 59); la bacteria puede penetrar por todas las mucosas. Después del aborto, las secreciones vaginales pueden contener más de diez bacterias vivas por mililitro (9). La eliminación de bacterias por esta vía puede persistir por varias semanas después del aborto, el cual puede pasar desapercibido. Para que la infección oral logre establecerse, parece necesaria la ingestión de grandes cantidades de bacterias; la infección experimental por esta vía requiere por lo menos dos millones de organismos. Se cree que la transmisión a través de orina y otras secreciones es poco probable dado que el número de bacterias, eliminadas por estas vías es limitado. Las secreciones mamarias de animales infectados poseen abundantes cantidades de *B. canis*, siendo posible que la leche sirva como fuente de diseminación. En los machos infectados la bacteria se localiza en epidídimo y próstata, propiciando la eliminación en el semen, del cual *B. canis* puede aislarse en grandes cantidades durante los dos meses posteriores a la infección; esto propicia la transmisión venérea.

Existen publicaciones indicando que la eliminación en eyaculados puede ocurrir en forma intermitente durante 60 semanas (35). La bacteria se ha cultivado a partir de próstata y epidídimo por lo menos dos meses después de que la bacteremia ha cesado. A pesar de que el número de microorganismos presentes en el eyaculado puede ser bajo, hay evidencias de que la infección por vía venérea es común. Un aspecto importante es que los animales portadores pueden ser clínicamente normales.

Carmichael (59) realizó un estudio en el cual hembras *beagle* susceptibles fueron alojadas junto con hembras infectadas en las mismas perreras durante diez meses; lo mismo se hizo con grupos de machos. En ninguno de los casos se transmitió la infección a los animales susceptibles. En contraste, la transmisión ocurrió cuando una de las hembras se cruzó con un macho infectado.

V. La enfermedad en animales

1. Características clínicas

Las características clínicas y patológicas de la enfermedad natural han sido ampliamente descritas (1, 8, 27, 39, 41, 46, 48, 50, 53,55, 58). La brucelosis canina es notablemente variable en lo que se refiere a las manifestaciones clínicas; frecuentemente la presencia de aborto es el único signo de enfermedad. En ocasiones se aprecia un aumento de tamaño en los ganglios linfáticos. En machos además de epididimitis y orquitis, es común la presencia de prostatitis en diferentes grados de severidad (2, 35, 56, 57). La fertilidad de estos animales se ve afectada; los espermatozoides están anormales, con colas alteradas y frecuentemente separadas de la cabeza; la motilidad del esperma se reduce notablemente. Se ha observado que las alteraciones en el semen son causadas por procesos de autoinmunidad que se producen cuando los antígenos espermáticos llegan al torrente sanguíneo después de ser ingeridos por macrófagos (16, 35). En machos es común la presencia de epididimitis y degeneración testicular, lo cual puede ocurrir en forma uni o bilateral. La infección en hembras gestantes generalmente se traduce en muerte embrionaria y aborto. Los abortos se producen aproximadamente entre los 45 y 55 días de gestación, pero pueden presentarse antes. La muerte temprana del embrión suele ocurrir entre los 10 y 20 días de gestación; esto frecuentemente ocurre sin haber signos de enfermedad. En general una hembra infectada aborta solamente una o dos veces, pero se han registrado casos de cuatro abortos consecutivos en una misma hembra (42, 59), Una de las características peculiares de la brucelosis canina es la prolongada bacteremia, la cual puede persistir durante uno hasta dos años o más (2, 35). Esta bacteremia puede ser intermitente.

2. Patogénesis

La patogénesis de la infección por *B. canis* en perros es similar a la de brucelosis en otras especies de animales. El periodo de incubación es variable. En casos experimentales, por lo general, la bacteremia se desarrolla 2 o 3 semanas después de la exposición oral con aproximadamente 10^8 bacterias; sin embargo, durante este lapso no se presentan manifestaciones clínicas.

La bacteria se localiza en los ganglios linfáticos, el bazo y el tracto reproductor. En una semana después de la infección, se produce aumento de volumen en los ganglios linfáticos, fundamentalmente debido a hiperplasia reticular; esto es común en ambos sexos (2, 41, 47). A diferencia de otras brucelosis, en la infección con *B. canis*, no siempre se produce un cuadro febril.

En cachorros que fueron experimentalmente infectados al nacer, se produjo inflamación en los ganglios linfáticos, y la bacteremia persistió por lo menos durante 36 meses. En estos animales hubo retraso en el crecimiento y la mayoría de las hembras mostraron retardo en la madurez sexual. Las lesiones en epidídimo y testículo de los machos experimentalmente infectados al nacer, se hicieron aparentemente entre los 8 y 10 meses de edad (68).

Otros signos inespecíficos que suelen presentarse durante la infección por *B. canis* son: fatiga, debilidad, anorexia, pérdida de peso y comportamiento anormal.

3. Patología

Las lesiones patológicas son notablemente constantes y consisten principalmente en hiperplasia reticular en las células de todo el tejido linfático, incluyendo las placas de Peyer (55, 57). El bazo suele aumentar considerablemente de tamaño. Otras lesiones comunes son: hepatitis focal e infiltración de monocitos en próstata y epidídimo (56, 57). Es posible observar pequeños granulomas en todos los tejidos, incluyendo riñón, cerebro y útero. En casos crónicos puede producirse meningitis con encefalitis focal no supurativa (55, 57). En glomérulos renales se han observado depósitos hialinos y engrosamiento de la membrana basal. Se ha descrito en casos crónicos uveitis anterior, además, se ha logrado el aislamiento de *B. canis* a partir del ojo de animales infectados que presentan esta lesión; las aglutinaciones practicadas con el humor acuoso indicaron la presencia de niveles elevados de anticuerpos (16, 46). En lo referente al tejido óseo cada día hay mayores evidencias de que la espondilitis puede estar asociada con la infección por *B. canis*, puesto que la lesión se ha observado en casos en que el diagnóstico serológico confirmó la enfermedad (39). En varios casos de animales con historia clínica de espondilitis, se ha aislado *B. canis* a partir de sangre (68).

VI. La enfermedad en el hombre

Aunque la enfermedad se ha diagnosticado en el hombre, se requiere sin embargo, una dosis masiva para que éste padezca la infección; hasta la fecha se han publicado quince casos de esta naturaleza (17, 20, 37, 49), y la mayoría están relacionados con accidentes de laboratorio. Ocho de estos casos correspondieron a personal de laboratorio o técnicos en el manejo de animales; cinco ocurrieron a personas que tenían estrecho contacto con animales enfermos, y en dos casos más no se determinó el origen de la infección. En todos los casos la infección fue leve en comparación con la brucelosis producida en el hombre a consecuencia de infección con las especies clásicas y siempre se produjo una respuesta satisfactoria al tratamiento con tetraciclinas. El cuadro clínico varía considerablemente, siendo frecuente el dolor de cabeza, náuseas, fatiga, dolor articular, linfadenitis y periodos de fiebre intermitente. En un caso en el que la infección ocurrió en el laboratorio, se presentó bacteremia que persistió por un periodo de cuatro meses, hasta que se inició el tratamiento con antibióticos. Todos los pacientes estudiados presentaron títulos de anticuerpos aglutinantes mayores de 1: 200, y éstos declinaron unas semanas después de que se inició el tratamiento. El periodo de incubación no se conoce y las lesiones patológicas no se han descrito. Como se mencionó anteriormente, las lesiones en monos (*M. aractoides*) son leves (43). En Argentina una publicación reciente (67) menciona un caso de infección por *B. canis* en el hombre, la cual fue, al parecer, transmitida por un perro infectado.

VII. Diagnóstico

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

El aislamiento de la bacteria a partir de sangre, descargas vaginales, leche, o bien, en el caso de abortos a partir de placenta y tejidos de los fetos abortados, es el único método en que el diagnóstico

es definitivo. Dado que la bacteremia persiste durante periodos considerablemente largos es recomendable realizar hemocultivos en todos los casos en que se sospecha enfermedad, sin olvidar que ésta puede existir en forma intermitente y que en casos crónicos la infección puede encontrarse localizada en uno o dos tejidos. Un resultado de hemocultivos negativos no debe ser considerado como definitivo. Por lo general los animales infectados poseen altos niveles de anticuerpos circulantes que persisten por varios meses después de que la bacteremia ha cesado.

Dado que *B. canis* en algunos determinantes antigénicos de la pared celular, difiere de las cepas lisas de otras brucelas, los antígenos y las técnicas estándar que se usan para el diagnóstico de brucelosis en otras especies, no pueden emplearse en el caso de infecciones por *B. canis*. En la actualidad se han descrito varios métodos para el diagnóstico serológico de esta enfermedad (28, 33, 34, 59); sin embargo, los resultados que con ellos se obtienen deben interpretarse con suma precaución.

En Estados Unidos se produce en forma comercial un antígeno teñido para realizar la prueba rápida de aglutinación en placa, la cual proporciona un diagnóstico presuntivo que debe confirmarse con otros métodos. Esta prueba es altamente sensible y con ella se detectan anticuerpos desde las primeras semanas de infección. La interpretación debe efectuarse con suma precaución, puesto que es común la presencia de reacciones "falsas positivas" (14, 66, 68); en contraste, esta prueba es sumamente significativa en el caso de resultados negativos, ya que numerosas investigaciones han demostrado que no se presentan reacciones falsas negativas. En muchas ocasiones sueros con títulos bajos de aglutinación corresponden en realidad a reacciones "falsas positivas", que pueden ser producto de infecciones por microorganismos que poseen ciertas características antigénicas en común con *B. canis*; pero en muchos casos dichas reacciones pueden ser en efecto indicios de que los animales sufrieron la infección pero actualmente se encuentran en proceso de recuperación; o bien de que la infección está localizada en ciertos tejidos, desde donde no produce considerable estimulación al sistema inmune.

Otros métodos serológicos frecuentemente empleados en los laboratorios incluyen: aglutinación en tubo (AT), aglutinación en tubo en presencia de 2 mercaptoetanol (2-ME), fijación de complemento (FC) inmunofluorescencia e inmunodifusión en gel (31, 34, 36, 41, 59, 61, 62). Hasta la fecha no se ha logrado la estandarización de ninguno de estos procedimientos; sin embargo, se ha encontrado que

la prueba de 2-ME es acertada en el diagnóstico de animales activamente infectados, en los que títulos de 1: 200 o mayores son considerablemente significativos (28, 69). Esta prueba, al igual que la prueba en tubo, puede fallar en la identificación de animales con títulos bajos de anticuerpos. Estudios recientes en los que se empleó inmunodifusión con antígenos preparados con *B. ovis* o con *B. canis* señalaron la ventaja de realizar el diagnóstico de la enfermedad mediante el uso simultáneo de cualquiera de los métodos de aglutinación en tubo (TAT o 2-ME), y la prueba de inmunodifusión (16, 66, 69). En muchas ocasiones en las que mediante las técnicas de aglutinación se obtuvieron resultados dudosos con suero de animales infectados, la prueba de la inmunodifusión produjo resultados positivos. De manera similar muchos sueros con títulos nulos o bajos de aglutinación produjeron líneas de precipitación diferentes de las que se presentan en sueros control positivos, sugiriendo que dichos anticuerpos son consecuencia de infecciones inespecíficas. Es importante señalar que los sueros empleados para diagnóstico deben ser libres de contaminación y no presentar hemólisis, pues ésta interfiere con la interpretación de los resultados y en ocasiones se producen reacciones falsas. Dada la importancia que representan los animales infectados en la diseminación de la enfermedad, es recomendable el empleo de por lo menos dos procedimientos serológicos antes de llegar a un diagnóstico definitivo. Los resultados de la aglutinación rápida en placa deben considerarse única y exclusivamente como presuntivos. En todos los casos se recomienda practicar hemocultivos y siempre que haya abortos se debe intentar el aislamiento a partir de los productos abortados.

Los estudios epidemiológicos en poblaciones humanas deben incluir procedimientos bacteriológicos. Los resultados serológicos deben interpretarse en forma conservadora, especialmente cuando no existen fuertes evidencias clínicas que sugieran la presencia de la infección; de lo contrario, se puede incurrir en graves errores, como es el caso de una publicación en la cual se señala que el 67.8% de una población muestreada al azar se encontraba infectada con *B. canis* (63). Esta conclusión fue obtenida como resultado del empleo de un método de microaglutinaciones, en el cual se consideró significativo cualquier título de 1: 12. Otros investigadores, empleando criterios más conservadores, registraron cifras de prevalencia en el hombre con niveles de aproximadamente 0.4% (15, 21). En la ciudad de México se encontró una prevalencia de más de 13% de reactores serológicos, aun cuando se registraron como positivos solamente los casos en los

que se produjeron reacciones completas de aglutinación en las diluciones 1:200 o superiores (40).

Actualmente se producen en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias lotes experimentales de antígenos para las pruebas de aglutinación en placa, tubo e inmunodifusión. En el departamento de bacteriología del mismo Instituto se están realizando estudios sobre esta enfermedad en combinación con el Instituto James A. Baker de Salud Animal, de la Universidad de Cornell, en Ithaca, N. Y., y con el Hospital General de la ciudad de México.

VIII. Inmunidad y prevención

Como ya se mencionó con anterioridad, una de las características peculiares de la infección por *B. canis* es lo prolongado de la bacteremia, que puede persistir hasta por más de 36 meses. La bacteremia causada por otras brucelas en las diferentes especies de animales suele ser menor de dos semanas. Los mecanismos que propician la persistencia de *B. canis* en sangre no han sido aún reconocidos. En un principio se pensó en la posibilidad de que esta bacteria pudiera causar supresión de la respuesta inmune de tipo celular; sin embargo, en investigaciones realizadas por los autores (datos no publicados) empleando la técnica de transformación de linfocitos para evaluar la respuesta celular *in vitro*, se encontró que no había diferencia entre las respuestas de linfocitos de perros infectados y las de linfocitos de animales libres de *B. canis*, al ser estimulados por mitógenos del tipo de la fitohemaglutinina y la concanavalina. Por otra parte, se observó que la bacteria no altera los índices fagocitarios. Es probable que la acción de la *B. canis* para poder sobrevivir en el interior de fagocitos circulantes consista en prevenir la fusión del lisosoma con el fagosoma, evitando así el efecto de las enzimas líticas. Actualmente se están realizando en la Universidad de Cornell estudios de microscopía electrónica tendientes a investigar este posible mecanismo.

Un aspecto interesante de la infección es el hecho de que los perros suelen recuperarse en forma espontánea tres o cuatro años después de adquirir la infección. Estos animales mantienen siempre títulos bajos de anticuerpos ($> 1: 25$), aun cuando la bacteria no ha podido ser aislada de los tejidos de estos animales. Cuando estos perros son desafiados con cepas patógenas, se observa que son sumamente resistentes. En contraste, cuando la infección se elimina en forma total en perros tratados con antibióticos, los anticuerpos desaparecen

completamente en un lapso de 30 a 60 días, y los animales son víctimas de la infección al ser desafiados con cepa patógena. Esto sugiere que durante el proceso de recuperación espontánea debe persistir antígeno de *B. canis* en algún sitio del animal, lo que permite una constante estimulación del sistema inmune.

La anterior debe ser considerado en el intento de desarrollar vacunas para la prevención de esta enfermedad, puesto que se ha demostrado que la vacunación con una cepa escasamente mucóide (M-) y poco patógena de *B. canis* confiere una buena inmunidad siempre y cuando se aplique en dosis suficientemente elevadas para propiciar el desarrollo de bacteremia de la cepa vacunal; cuando la bacteremia no ocurre, la protección conferida es muy leve (68). La cepa vacunal M-, a pesar de persistir en fase bacterémica, no parece causar alteración de tipo patológico en animales vacunados; sin embargo, la persistencia de este germen en el torrente sanguíneo no permite que se pueda recomendar en forma intensiva. Actualmente la vacuna M- se está usando en forma experimental, con el objeto de determinar las vías, dosis y edad más adecuadas para la vacunación.

IX. Tratamiento

Se sabe que las brucelas en general, al igual que otros organismos intracelulares, representan serias dificultades para el combate quimioterapéutico. Aunque en la actualidad no se cuenta con tratamientos completamente efectivos, se han obtenido resultados satisfactorios con algunas combinaciones de antibióticos, principalmente tetraciclinas, estreptomycin y sulfas (56, 64, 65, 68). Las tetraciclinas son bacteriostáticas, pero no se les ha demostrado valor curativo; aún cuando se aplican en dosis masivas, por periodos considerablemente largos; cuando se emplean en combinación con estreptomycin, se pueden obtener notables incrementos en la recuperación de los animales enfermos. La bacteremia desaparece a consecuencia del tratamiento, pero en ocasiones ésta puede presentarse nuevamente semanas o meses mas tarde. Por esta razón se recomienda que los animales tratados se mantengan bajo constante observación con estudios periódicos de laboratorio para identificar cualquier incremento en los títulos de anticuerpos.

Al comparar diferentes combinaciones de sulfas y antibióticos se observó que los mejores resultados fueron obtenidos al tratar a los perros durante dos semanas con 50 mg/kg de clorhidrato de minociclina y una semana con 20 mg/kg de estreptomycin; por otra parte,

se encontraron resultados bastante promisorios con el empleo de dosis muy pequeñas de oxitetraciclina insoluble,* en combinación con estreptomycinina (68).

El uso de tetraciclinas en infecciones por *B. canis* en el hombre es altamente efectivo.

X. Control

Las medidas adecuadas de control en los criaderos, deben basarse en la separación de los animales sanos de los enfermos; estos últimos deberán ser eliminados con la mayor brevedad. Medidas estrictas de desinfección deben aplicarse tanto en el equipo, locales y materiales, como en las manos de personas que han estado en contacto con animales infectados. *B. canis* es sumamente susceptible a la acción de desinfectantes comunes tales como sales cuaternarias de amonio, halógenos, etcétera.

Todas las hembras que han presentado abortos o infertilidad después de varios cruzamientos sucesivos, así como los machos con signos de problemas genitales, deben considerarse como potencialmente infectados. Estos animales deben aislarse hasta que el diagnóstico se haya efectuado en el laboratorio. Los animales positivos deben ser eliminados y los negativos deberán someterse a nuevos muestreos; son necesarias por lo menos tres pruebas con resultados negativos, obtenidos con intervalos de 30 días, para que un animal sea considerado definitivamente negativo (60). Todos los animales que se vayan a introducir en un criadero deberán admitirse únicamente cuando se obtengan dos resultados serológicos negativos con intervalos de 30 días. Cuando se registran títulos bajos de anticuerpos en cualquiera de las pruebas usadas, será necesario repetir el diagnóstico antes de considerar negativo al animal.

REFERENCIAS

1. Carmichael, L. E. Contagious abortion in beagles, *Hounds and Hunting* (USA), 64: 14-18, 1967.
2. Carmichael, L. E., and R. M. Kenney. Canine abortion caused by *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 152:605.616, 1968.

* Littocrón, Litton de México

3. Kimberling, C. V., D. W. Luchsinger, and R. K. Anderson. Three cases of canine brucellosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 148:900-901, 1966.
4. Moore, J. A., and M. Bennett. A previously undescribed organism associated with canine abortion. *Vet. Rec.*, 80:604-605, 1967.
5. Morisset, R., and W. W. Spink. Epidemic canine brucellosis due to a new species, *Brucella canis*. *Lancet*, 2: 1000-1002, 1969.
6. Hall, W. H. Epidemic brucellosis in beagles. *J. Infect. Dis.*, 124:615-618, 1971.
7. Taul, L. K., H. S. Powell, and O. E. Baker. Canine abortion due to an unclassified gram-negative bacterium. *Vet. Med./Sm. Anim. Clin.*, 62: 543-544, 1967.
8. Hill, W. A., G. L. Van-Hoosier, and N. McCormick. Epizootic abortion in a canine production colony. I. Epizootiology, clinical features, and control procedures. *Lab. Anim. Care.*, 20:205-208, 1970.
9. Carmichael, L. E. and L. W. George. Canine brucellosis: Newer knowledge, International Symposium on Brucellosis (II). Rabat 1975. *Develop. Biol. Standard.*, 31 :237-250. S. :Karger, Basel 1976.
10. Morgan, W. J. B. Reviews of the progress of dairy science, Section E. Diseases of dairy cattle brucellosis. *J. Dairy Res.*, 37:303-360, 1970.
11. Fredrickson, L. E. and C. E. Barton. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 165:987-989, 1974.
12. House, C. A., and F. E. Badakhsh. Letter to the editor. *Am. Vet. Med. Assoc.*, 165: 1046, 1974.
13. Lewis, G. E. A serological survey of 650 dogs to detect titers for *Brucella canis* (*Brucella suis*, type 5). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 8: 102-107. 1972.
14. Brown, J., J. Blue, R. E. Wooley, O. W. Dreesen, and L. E. Carmichael. A sera-survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and an evaluation of the slide agglutination test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 169: 1214-1216, 1976.
15. Lewis, G. T., and J. K. Anderson. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. *Am. J. Public. Health*, 63: 204. 205, 1973.
16. Carmichael, L. E. Canine brucellosis: an annotated review with selected cautionary comments. *Theriogenology*, 6: 105-116, 1976.
17. Swenson, R. M., L. E. Carmichael, and K. P. Cundy. Human infection with *Brucella canis*. *Annals. Int. Med.*, 76:435-438, 1972.
18. Center for Disease Control (USA). Human *Brucella canis* infection *Brucellosis surveillance annual summary*. 1966, 1967, 1968, 1969, 1970)1971, 1972, 1974.
19. Munford, R. S., R. E. Weaver, C. Patton, J. C. Feeley, and R. A. Feldman. Human disease caused by *Brucella canis* a clinical and epidemiologic study of two cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 231: 1267-1269, 1975.
20. Blankenship, R. M., and J. P. Sanford. *Brucella canis* a cause of undulant fever. *Am. J. Med.*, 59:424-426, 1975.
21. Hoff, G. L., and N. J. Schneider. Serologic survey of agglutinins to *Brucella canis* in Florida residents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24: 157. 159, 1975.

22. Camichael, L. E., and D. W. Bruner. Characteristics of a newly recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. *Cornell Vet.*, 58:579-592, 1968.
23. Meyer, M. E. *Brucella* organisms isolated from dogs: Comparison of characteristics of members of the genus *Brucella*. *Am. J. Vet. Res.* 30: 1751-1756, 1969.
24. Jones, L. M., M. Zanardi, D. Leong, and J. B. Wilson. Taxonomic position in the genus *Brucella* of the causative agent of canine abortion. *J. Bacteriol.*, 95: 625-630, 1968.
25. Hoyer, B. H., and N. B. McCullough. Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis* canine abortion organisms, and other *Brucella* species. *J. Bacteriol.* 96: 1783-1790, 1968.
26. Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*- 8th. Ed. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 278-282, 1974.
27. McCormick, N., W. A. Hill, G. L. Hoosier, and R. Wende. Enzootic abortion in a canine production colony. II. Characteristics of the associated organism, evidence for its classifications as *Brucella canis* and antibody studies on exposed humans. *Lab. An. Care*~ 20:209-214, 1970.
28. Alton, G. G., L. M. Jones, and L. E. Pietz. *Laboratory Techniques in Brucellosis* 2nd. ed., WHO, Geneva, p. 149, 1975.
29. Spink, W. W. Comments on canine brucellosis due to *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 156:1734-1736, 1970.
30. Diaz, R., L. Jones, and J. B. Wilson. Antigenic relationship of the gram-negative organism causing canine abortion to smooth and rough brucellae. *J. Bacteriol.*, 95: 618-624, 1968.
31. Myers, D. M., L. M. Jones, and V. M. Varela-Diaz. Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion test in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other brucellae. *Appl. Microbiol.* 23: 894-902, 1972.
32. Diaz, R., and N. Bosseray. Identification d'un compose antigenique specifique de la phase rugueuse (R) des brucella, *Ann. Rech. Vet.* 4:-283292, 1973.
33. Myers, D. M., V. M. Varela-Diaz, and E. A. Coltorti. Comparative sensitivity of gel-diffusion and tube agglutination test for the detection of *Brucella canis* antibodies in experimentally infected dogs, *Appl. Microbiol.*, 28: 1-4, 1974.
34. George, L. W., and L. E. Carmichael. A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis, *Am. J. Vet. Res.* 35:905-959, 1974.
35. George, L. W. Studies on the Immune Response in Canine Brucellosis. *Thesis*. Cornell University, Ithaca, New York, 1974.
36. Morgan, W. J. B., and M. J. Corbel. Recommendations for the description of species and biotypes of the genus *Brucella*. International Symposium on Brucellosis (II), Rabat 1975, *Develop. Biol. Standard.*, 31: 27-37, S. Karger, Basel 1976.
37. Spink, W. W., and R. Morisset. Epidemic canine brucellosis due to a new species: *Brucella canis*. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.*, 81:43-50, 1970.
38. Verger, J. M., M. Gate, M. Piechaud R. Chatelain, J. Ramiisse, and J. Blancau. Isolement de *Brucella suis* biotype 5 a Madagascar, chez une

- chienne, validite du nom d'especie *Brucella canis*. *Ann. Michobiol. (Inst. Pasteur)*, 126A:57-74, 1975.
39. Henderson, R. A., B. F. Hoerlein, T. T. Kramer, and M. E. Meyer. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 165:451-455, 1974.
 40. Flores Castro, R., and R. Segura. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell, Vet.*, 66:347-352, 1975.
 41. Deyoe, B. L. Studies on the Pathogenesis of a Canine Abortion Agent (*B. canis*) in dogs and other Domestic Animals. *Thesis*. Cornell. State University, Ames, Iowa, 1970.
 42. Pickerill, P. A. Canine Brucellosis: Serological Host Range, and Epidemiological Studies. *Thesis*. Cornell University. Ithaca, New York, 1970.
 43. Percy, D. H., I. N. Egwu, and A. M. Jonas. Experimental *Brucella canis* infection in the monkey (*Macaca aractoides*). *Canad. J. Camp. Med.* 36: 221-225, 1972.
 44. Moore, J. A., and B. N. Gupta. Epizootiology, diagnosis, and control of *Brucella canis*. *j. Am. Vet. Med. Assoc.* 156:1737-1740, 1968.
 45. Hoff, G. L., W. J. Bigler, D. O. Trainer, J. G. Debbie, G. M. Brown, W. G. Winkler, S. H. Richards, and M. Reardon. Survey of selected carnivore and opossum serums for agglutinins to *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Assoc.*, 165:830-831, 1974.
 46. Reike, J. A., and H. E. Rhoades. *Brucella canis* isolated from the eye of a dog *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176:583-584, 1975. .
 47. Yamauchi, C., T. Suzuki, T. Nomura, Y. Kukita T. Iwaki, Y. Kazuno, and A. Ghoda. Canine brucellosis in a beagle breeding colony. *Jap. J. Vet. Sci.*, 36: 175-182, 1974.
 48. Van Kruedener, R. B. Isolierung und Bestimmung von *Brucella canis* aus einem Beaglebestand. *Zbl. Vet. Med. Bull.*, 21 :307-310, 1974.
 49. Godoy, A. M. *Brucella canis* in Brasil. *Proc. V National Meeting on Microbiology (Brasil)*, pp. 77-78, 1974.
 50. Ueda, K., T. Magaribuchi, J. Saegusa, T. Urano, K. Itoh, V. Kiuchi, and K. Fujiwara. Spontaneous *Brucella canis* infection in beagles: bacteriological and serological studies. *Jap. J. Vet. Sci.*, 36:381- 1974.
 51. Englehardt, C. E. M. (English summary), Incidencia de *Brucella canis* en perros en el Distrito de Chiclayo. *Thesis*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, 1974.
 52. El Bahri, L., F. Ben Osamn, and A. Chadli. Serological survey for canine brucellosis in Tunis. *Arch. Pasteur. Inst. (Tunis)*: 315-331, 1970.
 53. Ueda, K., J. Saegusa, K. Fujiwara, S. Mutu, K. Okada, A. Hasegawa, S. Saegusa, and K. Usui. Detection of *Brucella canis* in dogs in the Tokyo area. *jap. J. Vet. Sci.*, 36:539-542, 1974.
 54. House, C. Laboratory diagnosis of canine brucellosis. *Pract. Vet.*, 46: 7-8, 1974.
 55. Carmichael, L. E., and R. M. Kenney. Canine brucellosis: The clinical disease, pathogenesis, and immune response, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 156: 1726-1734, 1970. .
 56. Moore, J. A., and T. J. Kakuk. Male dogs naturally infected with *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 155: 1352-1358, 1969.
 57. Gleiser, C. A., W. G. Sheldon, G. L. Van-Hoosier, and W. A. Hill.

- Pathologic changes in dogs infected with *Brucella* organism. *Lab. Anim. Sci.*, 21:540-545, 1971.
58. Moore, J. A. *Brucella canis* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155: 2034-2037, 1969.
 59. Carmichael, L. E. Canine brucellosis: isolation, diagnosis, transmission. *Proc. U.S. Livestock San. Assoc.*, 71 :517-527, 1968.
 60. Pickerill, P. A., and L. E. Carmichael. Canine brucellosis: control programs in commercial kennels and effect on reproduction. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 160: 1607-1615, 1972.
 61. Weber, V. A., and H. Krauss. Uber de brauchbarkeit des agargelprazipitationstes tes zum nachweis van *Brucella canis* infectionen bei beaglehunden. *Ber. Much. Tierarztl. Wsch.*, 88:425-437, 1975.
 62. Weber, A., and N. A. Hussein. Der indirekte immunofluorezenz test zum nachweis van *Brucella canis* infectionen. *Zbl. Vet. Med.* 23: 151-154, 1976.
 63. Monroe, P. W., S. L. Silberg, P. M. Morgan, and M. Adess. Seroepidemiological investigation of *Brucella canis* antibodies in different human population groups. *J. Glin. Microbiol.*, 2: 382, 1975.
 64. Jennings, P. B., M. H. Crumrine, G. E. Lewis jr., and B. L. Faris!. The effect of a two-stage antibiotic regimen on dogs infected with *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 164:513-514, 1974.
 65. Lewis, G. E., jr., M. H. 9rumrine, P. B. Jennings, and B. L. Fariss. Therapeutic value of tetracycline and ampicillin in dogs infected with *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Asso.c.*, 163:239-241, 1973.
 66. Flores Castro, R., G. F. Suarez, C. Ramirez Pfeiffer, and L. E. Carmichael. Canine brucellosis: bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico city. *J. Clin. Microbiol.*, 6:591 597, 1977.
 67. Ramacciotti, F. Aislamiento de *Brucella canis* efectuado por primera vez en la República Argentina, can transmisión humana. *Rev. Med. Vet.* (Bs. As.), 59 (2) :69-73, 1978.
 68. Flores Castro, R. Canine brucellosis: Analysis of method for diagnosis and treatment. *Thesis*, Cornell University, Ithaca, N. Y., 1978.
 69. Flores Castro, R., y L. E. Carmichael. VI Canine brucellosis: Current Status of Methods for Diagnosis *Cornell Vet.* 68. :76-88, 1978. Moreira.
 70. Jacob, M. Studies and tecniches for the clasification of the bacterial genus "*Brucella*". International Symposium on Brucellosis. (1), Tunis 1968. *Symp. Series Immunobiology Standard.* 12, Karger-Basel, pp. 167-180, 1970.