



Universidad Nacional Del Litoral

**Carrera Especialización en Salud de los Animales
de Compañía**

**“Relevamiento Serológico de *Brucella canis* en Río
Grande, Tierra del Fuego, Argentina”**

M.V. Verónica Bazán

**Director: Vet. Esp. en Diagnóstico Veterinario
Vilma Disalvo**

Co-Director: Vet. MSc. Marcelo F. Ruiz

Esperanza, Santa Fe

2020

Dedicatoria

A mi familia, mi sostén que me apoya siempre.

A Leandro, mi pareja, quien me alienta en cada tropiezo y me acompaña cada día.

A mis mentores quien que enseñaron que la pasión no se enseña, se transmite.

A Dios que me da la capacidad de siempre volver a creer que si se puede.

Agradecimientos

A mi Directora Vilma Disalvo, quien fue parte esencial de este proyecto y la impulsora de nuevas ideas.

A mi Co-director Marcelo Ruiz, quien me orientó para seguir adelante con este trabajo.

Al equipo del Laboratorio de Diagnóstico TDF "Dr. Raúl Chifflet", Liliana y Lorena, quienes me ayudaron en el nacimiento y proceso del estudio.

A los Méd. Vet. Julio Ruiz y Méd. Vet. Luis Ruiz, del área de Zoonosis, Municipio de Río Grande. Provincia de Tierra del Fuego, quienes se encontraron predispuestos a colaborar con este proyecto.

A Bqca. Gabriela Escobar, Jefa a/c Laboratorio de Brucelosis. Laboratorio Nacional de Referencia en Brucelosis Humana. INEI-ANLIS-"Dr. Carlos G. Malbrán", Ciudad de Buenos Aires, quien me brindó su capacitación y nos dieron material para trabajar.

INDICE

	<i>Resumen</i>	5
	<i>Summary</i>	6
1	<i>Introducción</i>	7
1.1	<i>Patogenia</i>	8
1.2	<i>Epidemiología y antecedentes</i>	9
1.3	<i>Características de la enfermedad</i>	10
1.4	<i>Manifestaciones clínicas</i>	10
1.5	<i>Diagnóstico</i>	12
1.6	<i>Tratamiento en caninos</i>	14
2	<i>Objetivos</i>	15
3	<i>Metodología de Trabajo</i>	16
4	<i>Resultados</i>	22
5	<i>Conclusiones</i>	27
6	<i>Bibliografía</i>	29
7	<i>Anexos</i>	33

RESUMEN

La brucelosis canina es una enfermedad contagiosa que produce problemas reproductivos en caninos. Es una zoonosis de distribución mundial. Esta enfermedad es producida por una bacteria, un cocobacilo GRAM (-) intracelular facultativo. *Brucella canis* presenta como hospedador y reservorio perro y/o cánido silvestre. En hembras gestantes posee un acentuado tropismo por la placenta, generando abortos en el último término de gestación; mientras que en machos genera epididimitis y dermatitis escrotal. Otros signos de enfermedad son linfadenopatias, fiebre, dolor articular y decaimiento.

La vía de transmisión es a través de mucosa conjuntiva, oro nasal, venérea y/o contacto con secreciones vaginales, placenta, fetos abortados, semen u orina de animales infectados.

En este estudio se evaluó la prevalencia de *B. canis* en perros de la ciudad de Río Grande, Tierra del Fuego. La investigación se llevó a cabo en periodos comprendidos entre Septiembre a Diciembre del año 2015. Las muestras fueron un total de 463 caninos divididos en 7 sectores de la ciudad.

De las 463 muestras procesadas, 55 resultaron positivas a R-SAT. Éstas fueron llevadas al laboratorio de referencia "ANLIS- Carlos G. Malbrán donde se les practicó las mismas técnicas junto con IELISA y hemocultivo, resultando positivas: 55 a R-SAT , 37 a IELISA y 8 a hemocultivo.

Los resultados obtenidos son de gran importancia ya que se han obtenido datos concretos sobre la presencia de esta enfermedad en la población canina, y por ende, se visibiliza la necesidad de intensificar la vigilancia epidemiológica y medidas tendientes a la prevención de estas zoonosis.

Summary

Canine brucellosis is a contagious disease which causes reproductive health issues in canines. It is a worldwide spread zoonosis. This condition is produced by a bacteria: an intracellular facultative cocobacillus GRAM (-). *Brucella canis* takes the wild hound as a host and reservoir. It produces a noticeable tropism via the placenta, generating abortions during the last period of gestation on expecting females whereas it causes epididymitis and scrotal dermatitis on males. In addition, lymphadenopathies, fever, articular sores, and lack of energy are also symptoms of this disease.

The transmission routes are through the conjunctiva, oronasal, venereal, and or by contact with vaginal secretions, placenta, aborted fetuses, semen, or infected animals 'urine.

The aim of this study was to evaluate the prevalence of *B. canis* in dogs from Rio Grande, Tierra del Fuego. The research was carried out in periods comprised between September and December, 2015. The samples were a total of 463 canines that resided in 7 sectors of the city.

As a screening test BPA (agglutination with buffered antigen) and R-SAT (buffered rapid micro agglutination) were executed at the local laboratory.

Out of the 463, 55 proved positive to R-SAT. These were taken to the reference laboratory ANLIS- Carlos G. Malbrán where the same techniques were applied on them along with IELISA and blood culture, proving positive: 55 to R-SAT, 37 to IELISA, and 8 to blood culture.

The obtained results are of great importance since they show the presence of this disease in the canine population of Rio Grande, hence, the need to intensify the epidemiological surveillance, control and prevention of this zoonosis can be visualized.

INTRODUCCIÓN

Etiología

La brucelosis canina es una enfermedad infecciosa, bacteriana, de presentación clínica o subclínica, caracterizada por producir trastornos en el aparato reproductor. En las hembras produce aborto en el último tercio de la gestación e infertilidad, mientras que en machos ocasiona epididimitis, orquitis uni o bilateral, degeneración testicular y dermatitis escrotal. Es de importancia desde el punto de vista de la Salud pública por su carácter zoonótico¹.

El agente etiológico es *Brucella canis*, un cocobacilo Gram (-) intracelular facultativo. No esporulado, acapsulado, inmóvil caracterizado por presentar lipopolisacárido (LPS) en la membrana externa como factor de virulencia⁶.

El género incluye seis especies y cada una de ella muestra una preferencia por un huésped determinado aunque una especie puede infectar varias especies animales: *Brucella abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *Brucella melitensis* afecta a cabras y borregos, *Brucella suis* a cerdos, *Brucella canis* afecta a perros, *Brucella ovis* causa infección a borregos y *Brucella neotomae* a roedores. En años recientes, el espectro de huéspedes de *brucella* se ha ampliado al incluir a los mamíferos marinos⁶.

En base al aspecto de las colonias obtenidas en medio sólido, las diferentes especies de *Brucella* se clasifican habitualmente como lisas o rugosas, siendo *B. canis* una especie de tipo rugosa. Esto confiere importancia ya que, actúa como determinante en la composición antigénica de las suspensiones de *Brucella* utilizadas para el diagnóstico por métodos indirectos, requiriendo entonces la utilización de antígenos de cepas que compartan superficie rugosa, como *B. ovis*, para la detección de anticuerpos²⁵.

Patogenia

La infección natural se restringe a los cánidos y rara vez a los seres humanos. La *B.*

canis es capaz de penetrar cualquier membrana mucosa, pero la oral, conjuntival y vaginal son las más importantes. La transmisión oronasal de los microorganismos aerosolizados de los materiales abortados es uno de los modos más importantes debido a las cantidades sustanciales del agente presente en ellos³.

Las Brucellas carecen de factores de virulencia clásicos (exotoxinas, cápsulas, citolisinas, plásmidos, etc.) y tienen un LPS que es menos tóxico que el de otras bacterias gramnegativas. Estos organismos pueden sobrevivir en los macrófagos evitando o suprimiendo los mecanismos bactericidas del huésped.

Las brucellas se fagocitan en los sitios contaminados de la mucosa por los macrófagos de los tejidos y otras células fagocíticas y se transportan a los tejidos del tracto linfático y genital donde se multiplican.

Algunos de los organismos pueden persistir intracelularmente dentro de los fagocitos mononucleares. El organismo inhibe el factor de necrosis tumoral α , alterando la actividad bactericida de las células asesinas naturales y los macrófagos. Las Brucellas evaden la fusión de fagolisosomas y se replican en un compartimento dentro del retículo endoplásmico de la célula. Una bacteriemia asociada a leucocitos se produce a partir de 1 a 4 semanas postinfección y puede persistir durante 6 a 64 meses. La hiperplasia linforreticular generalizada y el desarrollo de hiperglobulinemia ocurren durante el curso de la infección. Al igual que con otros parásitos intracelulares, la inmunidad celular es probablemente el mecanismo de defensa más importante contra *B. canis*. Los estudios en personas han indicado una disminución de la respuesta de los linfocitos T a las proteínas citoplasmáticas de *Brucella* en infecciones más crónicas²⁰.

Son capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de los fagocitos y de esa manera viaja por todo el organismo y se va acantonando en distintos sitios. Este es el mecanismo por el cual la bacteria persiste de por vida. De esta forma, se completa el ciclo infeccioso asegurando la contaminación de otros animales y la persistencia del germen en la naturaleza¹⁶.

En el ambiente, pueden sobrevivir y mantener la capacidad infectante durante períodos variables de acuerdo con las condiciones del medio en el que sean eliminadas. En condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y ausencia de luz solar, *Brucella spp.* puede permanecer viable durante varios meses en el agua, los fetos abortados, las heces, el equipo y la ropa. Las especies de *Brucella* pueden soportar el secado, especialmente en la presencia de material orgánico, y pueden sobrevivir en el polvo y el suelo. La supervivencia es mayor con bajas temperaturas, especialmente con temperaturas bajo cero³³.

Epidemiología y antecedentes

La infección de perros por *B. canis* se ha encontrado en prácticamente todos los países

donde se ha investigado. La prevalencia es variable según la región y el método de diagnóstico empleado. La infección constituye un problema en algunos criaderos, perros de familia y callejeros; en estos últimos la tasa de infección generalmente es más alta. Así, por ejemplo, en un estudio realizado en la Ciudad de México, 12% de 59 perros callejeros resultaron positivos por el aislamiento del agente etiológico ³³.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica la brucelosis dentro de la categoría de enfermedades infecciosas de origen bacteriano relacionadas con salud ocupacional y enfermedades de tipo profesional de notificación obligatoria ³¹. Las personas que tienen un mayor riesgo de contraer la patología son el personal a cargo del cuidado de cachorros en perreras y criaderos, personal de laboratorio que ha estado estrechamente en contacto con el patógeno, peluquerías caninas y médicos veterinarios ³⁴. Sin embargo, la población más susceptible son los propietarios de edad avanzada, mujeres embarazadas, pacientes inmunodeprimidos (con trasplantes, cáncer e infección por VIH) y niños, quienes tienen mayor contacto con sus perros ¹.

En el año 1966, la cepa *B. canis* fue aislada por primera vez por el Dr. Leand Carmichael en un criadero de perros raza Beagle de EE.UU. ³⁰.

En Argentina, fue aislada por primera vez en la ciudad de Córdoba en el año 1977 en una hembra de raza bóxer.¹⁰ En la ciudad de Moreno de la Provincia de Buenos Aires, Myers y Varela-Díaz en el año 1980 aislaron la bacteria como causa de enfermedad en perros callejeros ²⁴.

Durante el período 1996 - 2011, se han identificado y tipificado 309 cepas de *B. canis* aisladas de perros de distinto sexo, algunos de raza y otros mestizos procedentes de Buenos Aires, Córdoba, San Juan, San Luís y Tierra del Fuego; algunos con hábitos domiciliarios pero la mayoría peri-domiciliarios o vagabundos ³².

En un estudio sobre 219 perros de la Ciudad de Buenos Aires, seleccionados de barrios y asentamientos con bajas condiciones de higiene y gran porcentaje de animales merodeadores, encontraron que 7.3% tenían anticuerpos anti-*B. canis* y en 3 de ellos se aisló la cepa de *B.canis*.

Una investigación similar que incluyó 224 animales procedentes de 13 barrios del partido de Lomas de Zamora, provincia de Buenos Aires, detectó 10.7% serológicamente positivos y hubo dos aislamientos de *B. canis*. La mayoría de los perros infectados de ambos grupos tenían aspecto saludable ¹².

En 2003, se finalizó un trabajo de relevamiento epidemiológico con sueros de 1100 perros de la ciudad de General Pico, provincia de La Pampa, arrojando una prevalencia del 5,27% utilizando la prueba de IDGA (prueba de inmunodifusión en agar gel) ⁵.

En el año 2011, a partir del primer caso humano de brucelosis por *B. canis* en Río Grande Tierra del Fuego, se realizó un muestreo serológico, mediante la prueba de R-SAT (aglutinación rápida en porta objeto), sobre un total de 97 caninos en la zona del barrio Margen Sur, donde se detectó un 28,1% de casos seropositivos ¹⁴. En el 2013, en la ciudad de Ushuaia se halló un 6,45% de seropositividad en perros que ingresaban a una clínica veterinaria ².

Características de la enfermedad

La brucelosis canina presenta como hospedador y reservorio al perro y/o cánido silvestre. Si bien son considerados los únicos y verdaderos huéspedes, *B. canis* puede transmitirse al hombre y causarle enfermedad.

La fuente de contagio son los tejidos y secreciones de abortos, placenta, fetos abortados, leche, semen y orina¹⁶.

Esta patología tiene afinidad por los tejidos de los órganos reproductivos, es por ello que los mamíferos sexualmente maduros o en estado de preñez son más susceptibles a la infección. Está descrito que hay caninos que se infectan intra-útero, que no mueren al momento de nacer pero que son portadores y pueden o no presentar en algún momento de su vida signos de la enfermedad ¹⁶.

Cuando las bacterias ingresan en el organismo, son fagocitadas por los neutrófilos y monocitos y transportadas por la vía hematógena a los sinusoides del hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos, donde se multiplican en los macrófagos. La aparición de la enfermedad depende de la capacidad del huésped para restringir esta multiplicación ¹⁶.

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos y de los mecanismos dependientes de anticuerpos.

Esta capacidad de supervivencia intracelular determina el curso ondulante de la enfermedad, su tendencia a presentar recaídas y evolucionar a formas crónicas ²³.

La bacteriemia persiste en el animal por largos períodos que pueden prolongarse durante años. Si los perros enfermos no se aíslan, la infección se disemina rápidamente.

Manifestaciones clínicas

A pesar de la infección sistémica generalizada con *B. canis*, los perros adultos rara vez están gravemente enfermos. La fiebre es poco común y la mayoría de las infecciones no se diagnosticarán mediante la historia clínica o el examen físico. Los dueños de perros de trabajo informaron ocasionalmente pérdida de vigor y disminución de la tolerancia al ejercicio. Las hembras no grávidas no muestran signos de enfermedad que no sean linfadenomegalia, que ocurre en ambos sexos. Los signos clínicos generalmente implican trastornos reproductivos en animales sexualmente maduros ¹⁸.

En las hembras gestantes produce un acentuado tropismo por la placenta, disminuyendo el aporte de oxígeno al feto, teniendo como consecuencias desde la reabsorción embrionaria (si la muerte ocurre en el primer tercio de la gestación) hasta el aborto prácticamente a término. Las perras generalmente abortan crías muertas entre 45 y 60 días de gestación, pero no muestran otros signos clínicos. Las crías suelen estar parcialmente autolizadas, con edema subcutáneo y congestión y hemorragia de la región subcutánea abdominal. Se encuentran cantidades moderadas de derrames peritoneales sero-sanguíneos. Su apariencia sugiere la muerte fetal en el útero algún tiempo antes del aborto. Los fetos descompuestos generalmente no se encuentran porque la perra los ingiere. El aborto se caracteriza por un flujo vaginal marrón o gris verdoso que dura de 1 a 6 semanas. La brucelosis debe sospecharse bajo cualquier circunstancia cuando las perras aparentemente sanas abortan 2 semanas antes de término¹⁸.

El lugar de acantonamiento de las brucellas en el organismo está representado mayoritariamente por los ganglios linfáticos, tomando una especial importancia los retroinguinales y retromamarios, ya que serán la fuente de migración hacia los órganos sexuales, durante el celo, ante una gestación, periodo de servicio, o el alcance de la madurez sexual en los cachorros infectados ¹⁷.

Cabe resaltar que la vía congénita está demostrada ampliamente para el género *Brucella* y la sobrevida de los cachorros infectados intrauterinamente, aunque débiles y de bajo peso, en lo caninos resulta frecuente. (50-55 días de gestación) ¹¹.

Debido a las anomalías testiculares prominentes, los perros machos se presentan para su examen con más frecuencia que las hembras, a pesar de que el deterioro del rendimiento reproductivo masculino a menudo se nota menos. La inflamación epididimaria microscópica generalmente se desarrolla a partir de las 5 semanas posteriores a la infección con una progresión gradual de los signos. Los machos parecen gozar de buena salud, pero pueden tener un escroto agrandado debido a la acumulación de líquido serosanguíneo en la túnica. La dermatitis escrotal es el resultado de lamidas constantes y una infección secundaria con estafilococos no hemolíticos ²¹.

Se manifiesta atrofia testicular y azoospermia; epididimitis; prostatitis y dermatitis escrotal. También puede producir discoespondilitis, esplenitis, linfadenopatías y uveítis ²⁰.

La transmisión al hombre puede ser por contacto con semen, orina, descargas vaginales, placenta y/o fetos abortados de animales infectados, cuya apariencia es muchas veces saludable ³⁵.

Entre las manifestaciones extragenitales se mencionan uveítis, discoespondilitis, osteomielitis e inflamación de ganglios linfáticos ¹³.

Diagnóstico

1. Diagnóstico Serológico

Los métodos serológicos se emplean como prueba indirecta de la infección ya que la bacteriología no siempre es posible y cuando se la realiza no siempre es positiva. En este tipo de diagnóstico se debe tener en cuenta que el género *Brucella* presenta una estructura antigénica compleja, que la inmunidad no es estimulada igualmente por los distintos antígenos y que las respuestas varían con el estado de la infección ²².

El diagnóstico de laboratorio de brucelosis canina incluye las pruebas de aglutinación rápida en placa (ARP), aglutinación rápida en tubo (RSAT) e inmunodifusión en gel de agar (AGID). Estas tres pruebas tienen una cierta falta de especificidad dado que los Ag de superficie de *Brucellas* rugosas reaccionan en forma cruzada con los anticuerpos producidos por otras especies de bacterias no patógenas. Debido a esto se han refinado técnicas, implementándose una prueba RSAT utilizando un antígeno M-, un AGID que utiliza antígenos proteínicos citoplasmáticos y pruebas de ELISA e IFI. En la prueba de AGID, la modificación tendiente a disminuir los falsos positivos consiste en utilizar un complejo antigénico con al menos 3 antígenos incluyendo el 2-R, el cual no está presente en ninguna otra bacteria Gram negativo. El ELISA indirecto propuesto como diagnóstico se aconseja para estudiar los sueros positivos a RSAT, como una prueba complementaria después de ésta, aumentando la especificidad. Detecta IgA e IgG, permitiendo evaluar el estado clínico del animal. Otros autores citan el uso de ELISA indirecto utilizando como antígeno un lipopolisacárido rugoso (RLPS) obtenido de un cultivo de *Brucella canis*, lográndose en este caso una especificidad del 98,8% y sensibilidad del 95,8% ⁸.

2. Diagnóstico bacteriológico

El hemocultivo sigue siendo el método recomendado antes de declarar al animal infectado, pero como la bacteriemia puede ser intermitente un cultivo negativo no puede usarse como criterio para excluir una infección por *Brucella canis* ⁴.

Los métodos de amplificación del ADN como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han demostrado ser confirmatorios en el diagnóstico de brucelosis permiten acortar el tiempo de diagnóstico, reducir los riesgos de exposición y simplificar los requisitos de infraestructura necesarios ²⁸.

Imágenes

Cortesía "Dr. Eduardo Boeri (Instituto de Zoonosis Luis Pasteur Buenos Aires y Dr. Gustavo López (Facultad de Cs. Agrarias Universidad de Lomas de Zamora).



Foto 1. Feto abortado



Foto 2. Secreción vulvar purulenta.



Foto 3. Orquitis /epididimitis

Tratamiento en caninos

Debido a la ubicación intracelular persistente de *B. canis*, el resultado del tratamiento antibacteriano es incierto. El organismo es susceptible a varios antibacterianos, pero la ineficacia de la terapia in vivo comúnmente conduce a fallas o recaídas. Ninguno de los regímenes de tratamiento es 100% exitoso. Para mayor eficacia, los perros con brucelosis no deben ser tratados con un solo régimen antibacteriano; En todos los casos, se debe utilizar la terapia combinada ¹⁹.

La primera indicación de un canino con diagnóstico de brucelosis canina es la esterilización quirúrgica con el fin de controlar las principales vías de eliminación de la bacteria. En machos se practica la orquidectomía y en hembras se aconseja la ovariectomía por sobre la ovariectomía. De esta manera, se evitaría el riesgo que el paciente presente síndrome de ovario remanente y la consecuente posibilidad de seguir diseminando la infección ¹⁹.

Entre las opciones para el tratamiento farmacológico se encuentran: • Doxicilina 10 mg/kg, vía oral, cada 24hs durante 4 a 6 semanas. Combinar con estreptomina 20 mg/kg, IM, cada 24 hs durante la primer y última semana de tratamiento (se aconseja no utilizar las combinaciones comerciales con penicilinas de depósito). • Enrofloxacin 5 – 10 mg/kg cada 12 – 24 hs respectivamente durante 4 semanas. Al ser un tratamiento prolongado se aconseja la vía oral sobre la intramuscular debido a las reacciones locales que genera. También puede combinarse con estreptomina. Cabe aclarar que algunos animales no responden a esta terapéutica remitiendo los síntomas al cambiar la antibioticoterapia ²².

La bacteriemia desaparece a consecuencia del tratamiento, pero en ocasiones ésta puede presentarse nuevamente semanas o meses más 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 ¹⁵.

Cabe aclarar que, algunos animales no responden a esta terapéutica remitiendo los síntomas al cambiar la antibioticoterapia.

El seguimiento del paciente consiste en realizar controles serológicos específicos, comenzando un mes posterior a la finalización del tratamiento, cada tres meses el primer año y cada seis meses durante el segundo. Aislar al animal, tomar medidas de higiene con amonios cuaternarios y evitar el contacto directo con las secreciones ¹².

Fundamentación del trabajo

Teniendo en cuenta estudios previos realizados en Río Grande en el año 2011, se decidió dar continuidad al mismo por solicitud del Comité de Emergencia Agroganadero y de Alerta Sanitaria de Tierra del Fuego. Mayo 2015.

Los datos que se describen en el presente trabajo final para obtener el Título de Especialista en Salud de Animales de Compañía fueron cedidos por el Laboratorio de Diagnóstico Tierra del Fuego Dr R. Chifflet, Bajo la Dirección técnica de la MV Vilma Disalvo (se adjunta nota de autorización y acreditación del Laboratorio en la Red Nacional, Anexo 2)

Se utilizó como prueba tamiz BPA (aglutinación con antígeno tamponado) y R-SAT (micro aglutinación rápido en placa) realizados en un laboratorio habilitado de red nacional.(Anexo N°2).

Objetivo general

- Evaluar la prevalencia de *Brucella canis* en perros de la ciudad de Rio Grande, Tierra del Fuego.

Objetivos Específicos

- Realizar un seguimiento serológico y bacteriológico (aislamiento e identificación), a las muestras seropositivas, mediante las técnicas de BPA, RSAT, hemocultivo y ELISA.
- Brindar información a la población de Rio Grande, para el tratamiento y prevención de la enfermedad.
- Generar una seroteca para evaluar otros agentes infecciosos de caninos en estudios futuros.

METODOLOGIA DE TRABAJO

El estudio se realizó en Rio Grande, ubicada en la costa noreste de la isla Grande de Tierra del Fuego sobre el Mar Argentino, cuyo afluente austral del Océano Atlántico se denomina el Río Grande, motivo por el cual la ciudad toma su nombre.

Con una población de más de 100 mil habitantes, es el núcleo urbano con mayor densidad demográfica de la isla

Lugar de privilegiados cielos, con amaneceres rosados y crepúsculos anaranjados, se caracteriza por tener un clima frío y ventoso.



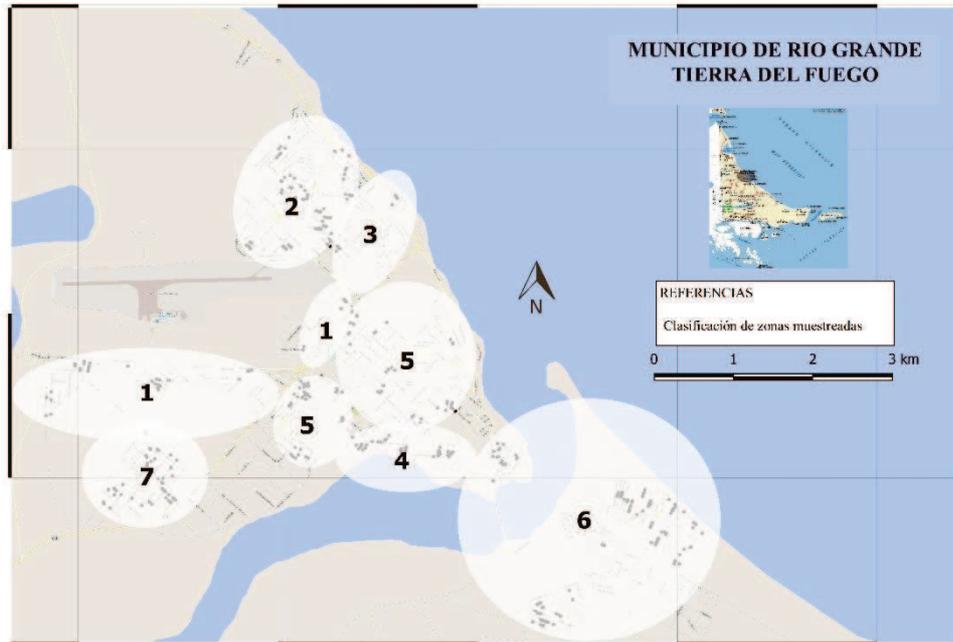
Foto 4. Costanera de Río Grande

La investigación se llevó a cabo en el periodo comprendido entre Septiembre a Diciembre del año 2015. Para realizar el muestreo en los caninos se dividió la ciudad en diferentes zonas mediante la utilización de un software estadístico (muestreo estratificado por conglomerados bietápico) propio del municipio de la ciudad, abarcando a diferentes barrios como se detalla en la siguiente tabla.

Zona	Barrios
1	Aeropuerto- San Martín- Camioneros-Chacra XI.
2	Chacra II y IV
3	Mutual- Profesional- Buena Vista.
4	Industrial- Evita Perón- Sarmiento
5	Centro
6	Margen Sur- AGP.
7	Chacra XIII- Los Cisnes- Chacra IX.

Tabla N° 2. Clasificación de las zonas.

El siguiente mapa se delimita en siete zonas los sectores involucrados de la ciudad, y a la vez evidencia los barrios muestreados. Se muestreó un total de 18 barrios, que mostraban diferentes características socio-económicas, siendo los más carenciados los barrios margen sur y Chacra IX.

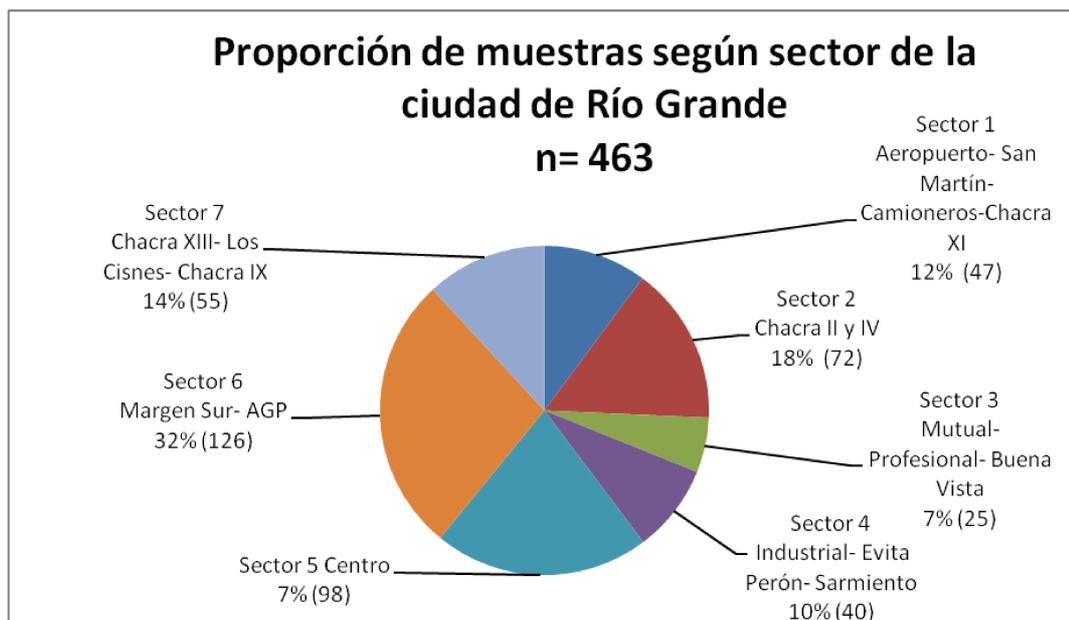


Mapa N°1. Distribución de las zonas de estudio.

Para el cálculo del tamaño de la muestra, se utilizó el software Epidat 3.1. Es un programa de libre distribución desarrollado por instituciones públicas y dirigido a epidemiólogos y otros profesionales de la salud para el manejo de datos tabulados.

Se valoraron 456 muestras de caninos distribuidos en 93 conglomerados, que fueron distribuidos en los 7 sectores mencionados. (Gráfico 1) Se procesaron más tomas de muestras que las planteadas al principio del trabajo.

Gráfico 1: Distribución de número de muestras por sector según metodología aplicada de muestreo.



Fuente: Elaboración propia

El procedimiento de muestreo se plasmó cada dos viviendas, es decir, habitadas de por medio comenzando desde la primer vivienda de la esquina más cercana a la que arribaba el equipo de investigación.

El criterio de inclusión estuvo dado por la elección de animal no castrado macho o hembra y ejemplares mayores de un año con hábitos peri-domiciliarios.

➤ ***Extracción de las muestras en terreno y diagnóstico serológico local***

El personal del Municipio de Río Grande se encargó del trabajo a campo dirigiéndose a cada vivienda con los materiales necesarios (guantes de látex, agujas, jeringas, tubos de extracción, algodón, alcohol, peladora, descartadores de residuos patológicos) para la extracción de la muestra sanguínea y posterior obtención del suero. Cada propietario, debía firmar un consentimiento que informaba la manipulación a realizar y los fundamentos del estudio (Anexo N°3).

Luego de la extracción, las muestras fueron remitidas junto con planilla de entrada al laboratorio de diagnóstico local dentro de una caja conservadora dispuestas en una gradilla con bolsa de agua caliente, para favorecer el desuerado. Las planillas contenían los datos del animal y del propietario, antecedentes epidemiológicos y signos clínicos en caso que los hubiere (Anexo N°4).

Se analizaron las muestras en el laboratorio de diagnóstico de Tierra del Fuego, quien es parte de la Red de Brucelosis (Anexo N° 5). Se realizó la recepción, procesamiento, acondicionamiento y emisión de los respectivos informes de resultados.

Al ingresar las muestras al laboratorio, se completó una ficha protocolar en la que se controló la concordancia de las planillas con las muestras. Luego, se llevaron a baño maría

por 15 minutos a 37°C (+/- 1°C) y se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos a fin de separar el suero del coágulo. El suero recolectado se colocó con micropipeta y tips en tubos tipo eppendorf reservando un duplicado para confeccionar una seroteca, a fin de realizar futuros muestreos y estudiar otras enfermedades infecciosas zoonóticas. Los sueros que lo requirieron, fueron centrifugados en micro-centrífuga con el objetivo de lograr un suero más limpio y translúcido. Aquellos que se encontraban con lipemia y hemólisis, eran rechazados por la unidad diagnóstica.

Para detectar anticuerpos anti especies lisas de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*), se realizó la prueba de BPA (aglutinación con antígeno tamponado), con antígeno preparado en el Laboratorio de Brucelosis de INEI – ANLIS; Malbrán.

La técnica de BPA es una prueba tamiz, rápida, práctica y económica que reduce las aglutinaciones inespecífica. Es cualitativa y se interpreta como positiva o negativa. El bajo pH del antígeno favorece la aglutinación de los anticuerpos del isotipo IgG ²⁶.

El servicio de brucelosis del INEI-ANLIS, fue creado en 1994 ante la necesidad de estandarizar el diagnóstico de esta enfermedad en el país. Hoy cuenta con una Red Nacional de Laboratorios provinciales capacitados para realizar el diagnóstico y a la vez supervisar el que se efectúa en los centros de salud de su región.



Foto 5. Prueba BPA. Suero problema con el antígeno.



Foto 6. Homogeneización de suero problema

Para detectar anticuerpos anti especies rugosas de *Brucella* (*B. canis*, *B. ovis*), se realizó como prueba tamiz la prueba de R-SAT (aglutinación rápida en porta objeto). La técnica emplea un nuevo antígeno menos mucoide (M-) de *B. canis* ¹⁰.

El reemplazo de *Brucella ovis* con células de *B. canis* (M-) como antígeno en las pruebas de aglutinación en portaobjetos aumentaría la precisión al reducir la tasa de resultados falsos positivos Es una prueba cualitativa y se interpreta como positiva y negativa²⁷.



Foto 7. Antígeno R-SAT.

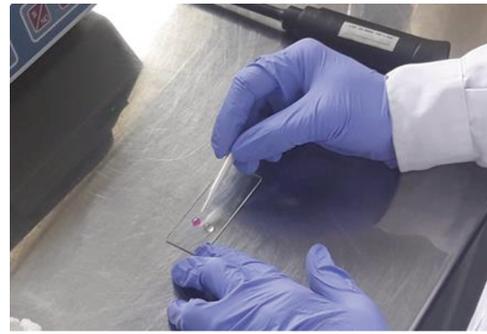


Foto 8. Prueba de aglutinación R-SAT.



Foto 9. Sueros colocados en tubos tipo eppendorf

El aislamiento de la bacteria a partir de diferentes fluidos no siempre es factible ya que está sujeto a la bacteriemia intermitente y a muestreos repetidos. Además, los tiempos de cultivo son extensos y un cultivo negativo no asegura la ausencia de infección. Por este motivo, las técnicas serológicas constituyen la herramienta más importante para el diagnóstico de esta enfermedad. Sin embargo, debido a su sensibilidad elevada, la prueba tamiz que se utiliza frecuentemente es la microaglutinación rápida en placa (RSAT). El antígeno para RSAT se elabora a partir de una suspensión de la cepa de *B. canis* menos mucoide (M-) y permite detectar los anticuerpos dirigidos contra los antígenos de superficie de la bacteria ⁷.

Una vez realizadas las técnicas, los resultados se transcribieron en una hoja de trabajo para así emitir el informe final (Anexo N°6).

Los sueros debidamente identificados, se archivaron en cajas y se conservaron a -20°C quedando en resguardo de la unidad diagnóstica.

➤ ***Extracción de muestras de canes seropositivos y diagnóstico en laboratorio de referencia***

A aquellos animales que resultaron positivos a las pruebas de screening, se les efectuó un segundo sangrado a fines de obtener suero y sangre para hemocultivo. Este último, fue acondicionado en el medio de Britania® (frasco medio para hemocultivo) y resguardado a temperatura ambiente. El suero fue conservado a -20°C en el freezer de la unidad local.

Luego de culminado el sangrado, el suero en resguardo junto a una alícuota de la primera extracción (analizadas en el laboratorio local) se remitieron al laboratorio de referencia ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” – Laboratorio de Brucelosis, acondicionadas respetando las normas básicas de bioseguridad mediante triple envase.

En el centro de referencia se les repitieron las pruebas tamices de BPA y R-SAT y como técnica confirmatoria se les realizó un ELISA indirecta (IELISA), cuyo antígeno se obtuvo de la cepa *B. canis* M- en el laboratorio de Brucelosis INEI-ANLIS., con una proteína recombinante como conjugado, que tiene una sensibilidad y especificidad del 100%⁹.

Los hemocultivos se incubaron en el Centro de Referencia durante 40 días a 37° C, en atmósfera adicionada con 10% de CO₂ y semanalmente se efectuaron pases a medios sólidos. Las colonias aisladas fueron identificadas y tipificadas, en el Laboratorio de Brucelosis - INEI-ANLIS. La tipificación de las cepas en especies y biovariedades se realiza utilizando las clásicas pruebas bioquímicas, serotipificación y lisotipia, incluyendo cepas patrones de referencia.

➤ ***Control de los canes seropositivos***

Seis meses después de la primera extracción, a los fines de evaluar la evolución de la enfermedad, se extrajo sangre a los animales que resultaron positivos a algunas de las pruebas de screening o confirmatorias en el laboratorio de referencia.

RESULTADOS

En la primera extracción, el Municipio de Río Grande remitió al Laboratorio de Diagnóstico TDF “Dr. Raúl Chifflet” 517 muestras de suero canino, 463 muestras resultaron aceptadas y procesadas, el 10% de ellas fueron rechazadas por varios motivos, entre estos se mencionan, hemólisis, lipemia y escaso volumen.

El total de muestras procesadas por BPA fueron negativas (ausencia de aglutinación) El 12% de las muestras resultaron positivas a las técnicas R-SAT, siendo un total de 55 muestras sobre un total de 463 de canes muestreados, como se puede evidenciar en el siguiente gráfico (Gráfico 1).

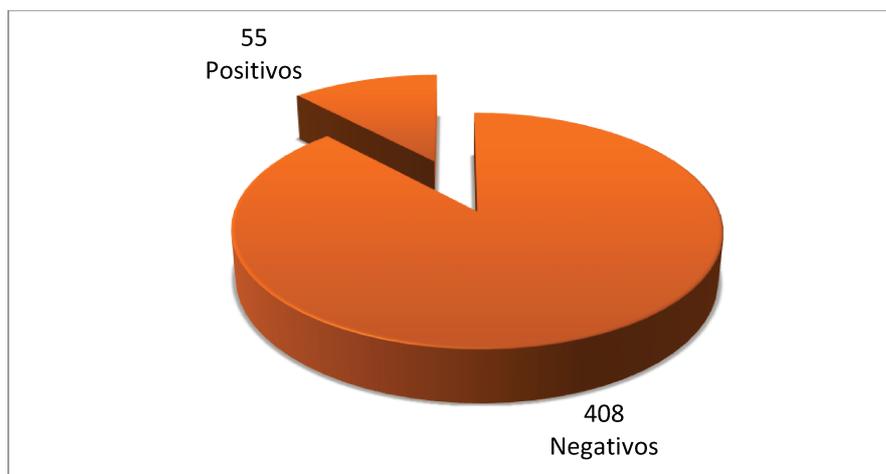
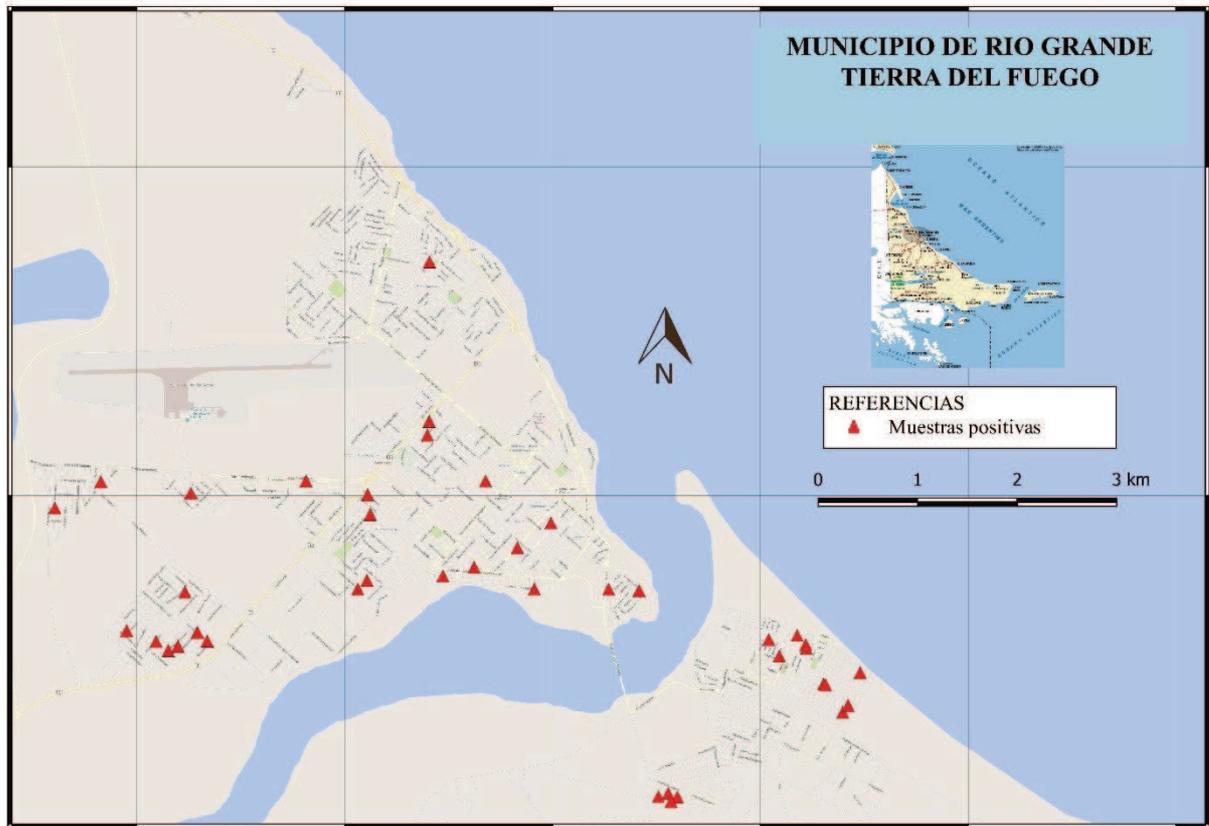


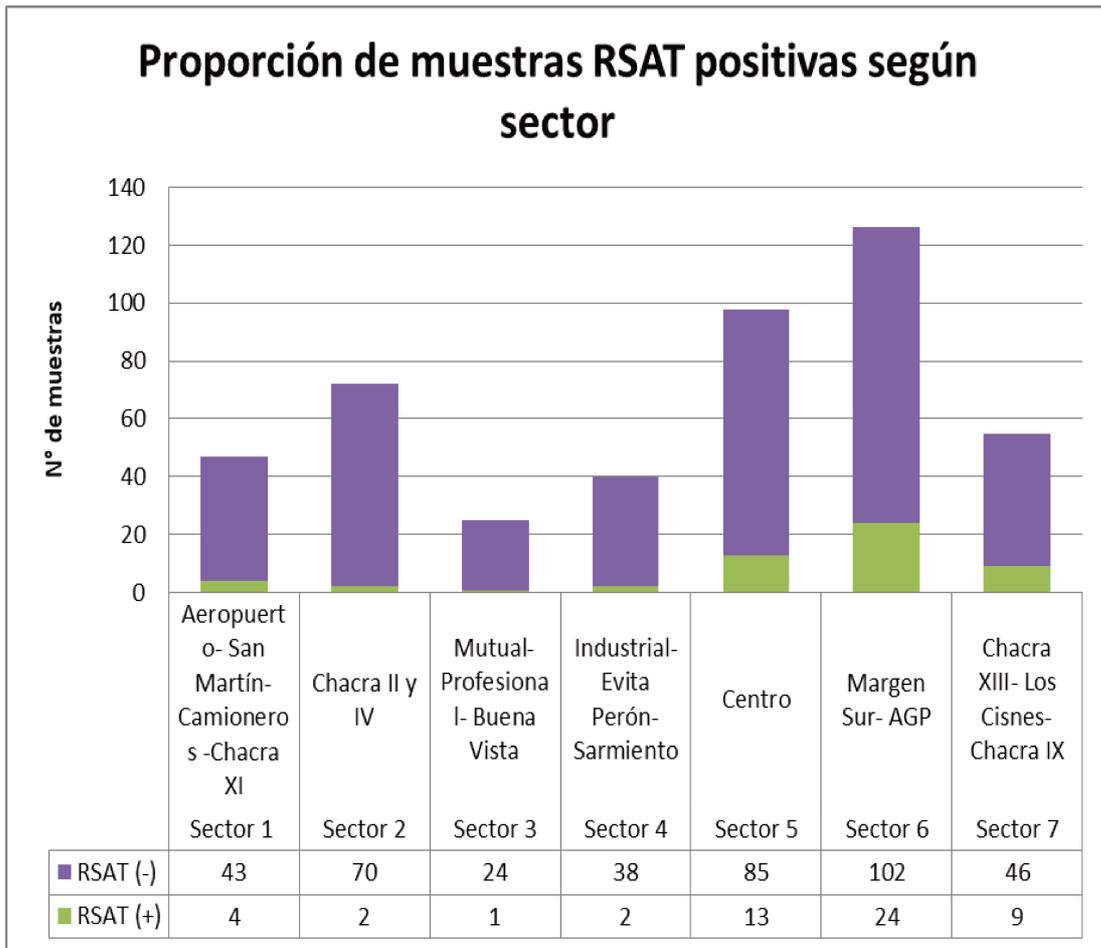
Gráfico N° 1. Muestras positivas a la técnica de R-SAT procesadas en Laboratorio de Diagnóstico TDF “Dr. Raúl Chifflet”.

Se representa en el siguiente mapa, la distribución de las muestras que resultaron positivas a la serología local (Mapa 3)



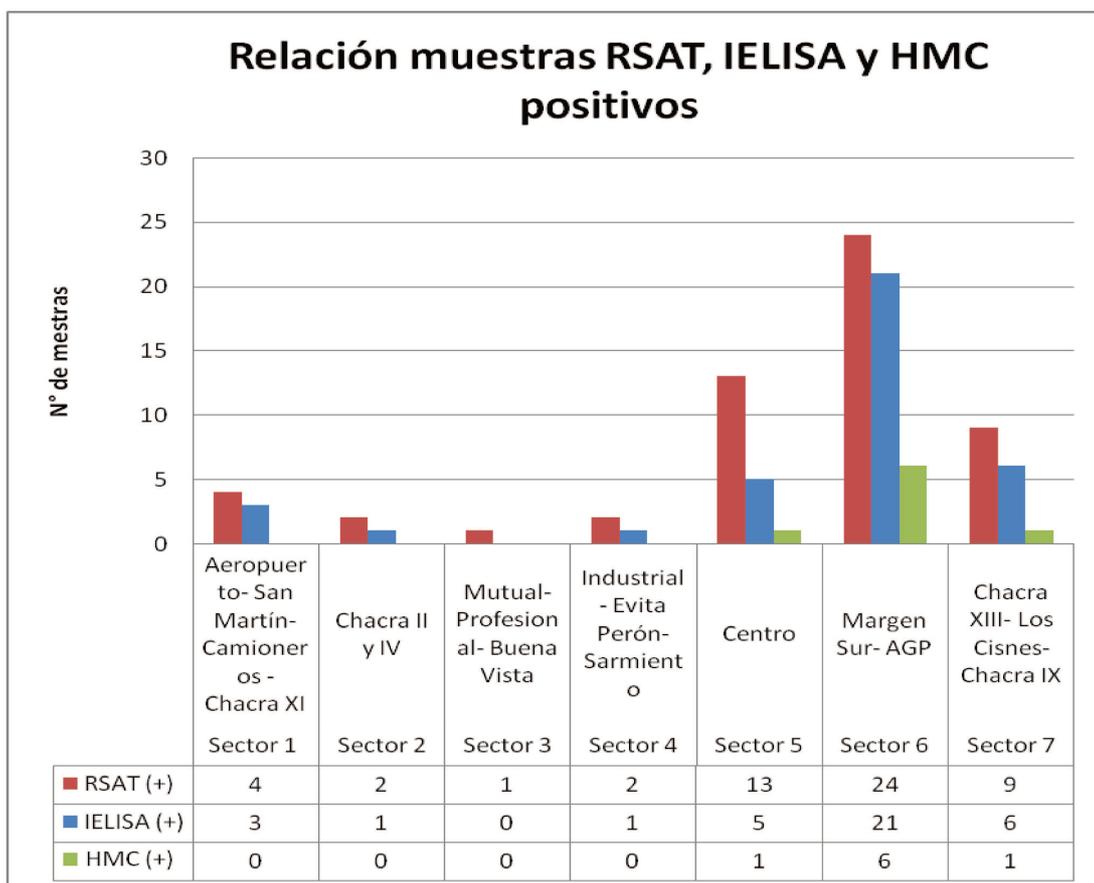
Mapa N°3. Distribución de muestras positivas.

En el siguiente gráfico se representa la proporción de muestras positivas a R-SAT según las zonas y barrios, en Río Grande.



En la segunda instancia del estudio, las 55 muestras positivas fueron remitidas al laboratorio de referencia “ANLIS - Carlos G. Malbrán”, en donde se les practicó la técnica de R-SAT, BPA e IELISA. Mientras que a las botellas de hemocultivos se les realizó incubación por un mínimo de 40 días. Del total mencionado resultaron positivas: 55 R-SAT, 37 IELISA y 8 hemocultivos (HCM) para la tipificación.

En el siguiente gráfico se representa el resultado de las tres pruebas por sector y barrio.



En aquellas mascotas que resultaron positivas, el departamento de Zoonosis les brindó a los propietarios las siguientes recomendaciones:

- Mascotas:

Tratamiento quirúrgico: Castración, pudiendo hacerse en el quirófano móvil del municipio o mediante un veterinario privado.

- Tratamiento médico, mediante enrofloxacin 5 – 10 mg/kg cada 12 – 24 hs respectivamente por via oral durante 4 semanas.
- Seguimiento serológico por tres meses mediante la prueba RSAT.(recomendado por el laboratorio de referencia “ANLIS - Carlos G. Malbrán”)

- Callejeros:

- Campañas de esterilización masiva
- Campañas de concientización
- Recomendar el chequeo del dueño y los posibles contactos

En cuanto a la Educación/ Promoción de la Salud:

- Capacitación docente niveles iniciales, EGB 1,2 ,3 , polimodal y profesores
- Confección y distribución de material preventivo (flyers, afiches, gigantografías, spot tv y radio) ²⁹.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en la presente investigación son relevantes debido a que la mayoría de los datos epidemiológicos se corresponden a los reportados en la provincia de Buenos Aires.

Los resultados obtenidos, son de gran importancia en materia de salud pública veterinaria, ya que se han obtenido datos concretos acerca de la presencia de esta enfermedad en la población canina de la ciudad, y por ende, se visibiliza la necesidad de intensificar la vigilancia epidemiológica y de medidas tendientes a la prevención de esta zoonosis

La información que se genera es importante para los médicos veterinarios dedicados a la clínica de animales de compañía para que incluyan a esta enfermedad dentro de los diagnósticos infecciosos a sus pacientes.

La susceptibilidad a la brucelosis en humanos por *Brucella canis* depende de varios factores, entre ellos el estado inmune, vías de infección y tamaño del inóculo. Son factores de riesgo para la infección aquellos caninos de criaderos, la exposición sin elementos de protección personal a material biológico, como abortos y secreciones, de perros infectados con la bacteria. Esto manifiesta la necesidad de vigilancia de la enfermedad para evitar la presentación de casos en una población en riesgo.

Las infecciones por *Brucella canis* en personas están sub-informadas y sub-diagnosticadas debido a los síntomas no diferenciados, la falta de sospecha de esta patología por parte del equipo de salud y la metodología diagnóstica que varía en comparación con las otras especies de Brucellas. Esta situación de subregistro/subdiagnóstico se transformaría, al poner en evidencia su presencia en la localidad, informando al profesional de la salud veterinaria y humana sobre la casuística y consecuencias de esta enfermedad. Aunque la verdadera incidencia de infección humana por *B. canis* se desconozca, su hallazgo en la población canina en Rio Grande pone en evidencia el riesgo de contagio al que está expuesto la población.

De los resultados positivos, se infiere que los sectores con mayor número de casos fueron el N° 5, 6 y 7 correspondientes al Barrio Céntrico, Margen Sur y Chacra XIII, respectivamente. Por ende, resulta interesante que este proyecto derive en estudios concretos sobre estas zonas de mayor casuística, a los fines de controlar el avance de la enfermedad y disminuir el riesgo que las personas se enfermen. Se indicaron acciones sobre los canes positivos a la serología, entre ellas se enfatizó en la implementación de los métodos de castración y tratamiento con antibióticos que inducirían al control de la enfermedad evitando su diseminación.

Me parece útil e importante la educación mediante programas de control e información de la enfermedad, mediante folletos, charlas en escuelas o programas educativos para conocer realmente la casuística de esta enfermedad de salud pública.

En el anexo N°7 presentamos un ejemplo de un programa educativo de la facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia, donde mediante imágenes ilustrativas hace un recorrido describiendo la enfermedad, con métodos de diagnóstico y control ¹⁷.

Citas bibliográficas

1. Abarca V K, López del P J, Peña D A, López J C. (2011) Tenencia y estado de salud de mascotas de niños inmunocomprometidos, con énfasis en enfermedades zoonóticas. *Rev Chilena Infectol*; 28 (3): 205-10.
2. Adrián Schiavini .Carla Narbaiza (2015) Estado de situación de los conflictos derivados de las poblaciones caninas en Tierra del Fuego. Informe realizado por solicitud del Comité de Emergencia Agroganadero y de Alerta Sanitaria de Tierra del Fuego, Argentina. Pág:15 a 16. Disponible online : https://www.researchgate.net/publication/277021246_Conflictos_derivados_de_las_poblaciones_caninas_en_Tierra_del_Fuego?Enrichid=rgreq-b609784ad1289e562f6cae3379629137-XXX&enrichsource=y292zxjywdlozi3nzaymti0njtbuzoymziwmdcxnji2ntg4mtzamtqzmjmynjijny3ma%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationcoverpdf
3. Amasino, C. F. (2017). Enfermedades infecciosas de los animales y zoonosis. Libro de cátedra. Editorial de la Universidad de la Plata. Argentina. Pp 88-89.
4. Ardoino, S.M.; Baruta, D.A.; Toso, R.E. (2006) Brucelosis canina. *Ciencia Veterinaria* Vol. 8, Nº 1. Cátedra Enfermedades Infecciosas, Cátedra Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, unlpam. ISSN: 1515-1883. Pp 51-52.
5. Ardoino, S.M.; Baruta, D.A.; Toso, R.E. (2006) Brucelosis canina. *Ciencia Veterinaria* Vol. 8, Nº 1. Cátedra Enfermedades Infecciosas, Cátedra Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, unlpam. ISSN: 1515-1883. Pp 51-52.
6. Barboni Ana María. Barandiaran Soledad. (2009) Manual de enfermedades infecciosas . Cátedra de enfermedades infecciosas .Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires, Argentina. ISBN 9789502911663. Pp 60-61
7. Carmichael L.E. Canine brucellosis: Isolation diagnosis, transmission. *Proc US Livest sanitassoc*, 1968. 71:517-527.
8. Carmichael, L. E., Flores-Castro, R., Zoha, S. Brucellosis caused by *Brucella canis*: an Update of Infection in Animals and in Humans. Geneva: World Health Organization. Document WHO/BRUC./80.361 WHO/ZOON./80.135. 1980.
9. Carmichael, L. E., Flores-Castro, R., Zoha, S. Brucellosis caused by *Brucella canis*: an Update of Infection in Animals and in Humans. Geneva: World Health Organization. Document WHO/BRUC./80.361 WHO/ZOON./80.135. 1980.
10. Carmichael, L. E., Joubert, J. C. (2004). A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. *Cornell Veterinary*, 77: 3-12. 1987. [4.] Wanke M.M. Canine brucellosis. *Anim Reprod Sci*. 195-207.
11. Cecilia di Lorenzo. (2018). Casos y prevención brucelosis canina y su importancia en salud pública. Libro de resúmenes de XXII reunión científico técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Unirio editora. Universidad Nacional de Rio Cuarto. ISBN 9789786883061. Pp 18 -19.
12. Dr. Eduardo J. Boeri. (2016).Brucelosis canina. Epidemiología, fuentes de infección, mecanismos de transmisión, distribución y control. Taller teórico práctico. INEI-ANLIS-“Dr. Carlos G. Malbrán”, Ciudad de Buenos Aires. Pág:117-118.

13. Dr. Eduardo J. Boeri.(2016) .Brucelosis canina. Epidemiología, fuentes de infección, mecanismos de transmisión, distribución y control. Taller teórico práctico. INEI-ANLIS-“Dr. Carlos G. Malbrán”, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Pág: 25-26.
14. Dra. Nidia E. Lucero.(2012) BRUCELOSIS CANINA: UNA ZOONOSIS URBANA EMERGENTE Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico XIX Reunión Científico Técnica; Servicio de Brucelosis, INEI-ANLIS Dr.C.G.Malbrán. Buenos Aires, Argentina.
15. Erika Giraldo Palacio. (2014). Presentación de Brucelosis Canina en la práctica de la Clínica de Pequeños Animales del Hospital Veterinario de La Universidad Austral de Chile. Estudio De Caso. Chile. Corporación Universitaria Lasallista Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias; Programa de Medicina Veterinaria en convenio con La Universidad De La Salle, Bogotá Caldas ,Antioquia. Pp 17-18.
16. Franklin Román-Cárdenas.Jhuliana Luna-Herrera.(2017). Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (Brucella abortus, Brucella mellitensis, Brucella suis, Brucella canis) en el Ecuador y el mundo. Centro de Biotecnología N° 6 82-93. Centro de Biotecnología, Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Universitaria Loja, Ecuador. Disponible online: www.revistas.unl.edu.ec/inde.php/biotecnologia
17. Giraldo, Carlos Andres; Castrillón Salazar, Laura; Olivera Angel, Martha. (2011). Programa de Prevención y Control de la Brucelosis Canina. Editorial Biogenesis. Extensión a la Comunidad Grupo Vericel, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia La Brucelosis Canina. Medellín, Colombia. ISBN: 978-958-714-423-9
18. Greene, C. E. (2012). *Infectious diseases of the dog and cat*. St. Louis, Missouri. Cáp 38: 423-424. ISBN: 978-1-4160-6130-4
19. Greene, C. E. (2012). *Infectious diseases of the dog and cat*. St. Louis, Missouri. Cáp 38: 430-432 ISBN: 978-1-4160-6130-4
20. Greene, C. E. (2012). *Infectious diseases of the dog and cat*. St. Louis, Missouri. Cáp 38: 397-399. ISBN: 978-1-4160-6130-4
21. Greene, C. E. (2012). *Infectious diseases of the dog and cat*. St. Louis, Missouri. Cáp 38: 424-425 ISBN: 978-1-4160-6130-4
22. Moral Mabel (2013)Enfermedades infecciosas.Brucelosis. Guía para el equipo de salud Nro. 12.Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación. ISSN 1852-1819. Av. 9 de Julio 1925 (C1073ABA), Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina/ Web: www.msal.gov.ar
23. Moral Mabel (2013)Enfermedades infecciosas.Brucelosis. Guía para el equipo de salud Nro. 12.Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación.Pp:21-23 ISSN 1852-1819. Av. 9 de Julio 1925 (C1073ABA), Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina/ Web: www.msal.gov.ar
24. Myers, D. M.; Varela-Diaz, V. M. (1980). Serological and bacteriological detection of Brucella canis infection of stray dogs in Moreno, Argentina. *Cornell Veterinary*,70: 258-265
25. Nelson, Richard W., and C. Guillermo Couto. (2010) Medicina interna de animales pequeños. Editorial Inter-médica. Tercera edición. Buenos Aires, Argentina ISBN: 9788480865012.

26. Nidia E. Lucero Gabriela I. Escobar Sandra M. Ayala Deborah B. Hasan .2008. Manual de Procedimientos .Técnicas para el Diagnóstico de Brucelosis Humana. Servicio de Brucelosis Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán" Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur .pág:13-14
27. Nidia E. Lucero Gabriela I. Escobar Sandra M. Ayala Deborah B. Hasan .2008. Manual de Procedimientos .Técnicas para el Diagnóstico de Brucelosis Humana. Servicio de Brucelosis Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán" Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur .pág:49-50
28. Olivera, M., Giraldo, C. A., & Di-Lorenzo, C. (2011). Identificación por PCR de *Brucella canis* en sangre y leche canina: Reporte de un caso. *Archivos de medicina veterinaria*, 43(3), 295-298.
29. Pablo Gonzales. José Ojeda. (2012). Ordenanza municipal 2942/2011. Consejo Deliberante del Municipio de Rio Grande, provincia de Tierra del Fuego e islas del Atlántico Sur, Argentina. Pág: 10
30. Ramacciotti, F. (1978). Aislamiento de *Brucella canis* efectuado por primera vez en la República Argentina, con transmisión humana. *Rev. Med. Vet. Bs As, Argentina*, 59 (2): 69-73.
31. Ramírez H, Calle S, Echevarria L, Morales S. (2006) Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la Provincia constitucional del Callao. *Rev Inv Vet .Perú*; 17 (1): 39-43.
32. Sandra Marzetti, Cristina Carranza, Mariela Roncallo, Gabriela I. Escobar, Nidia E. Lucero. (2012). Recent trends in human *Brucella canis* infection, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. Editorial Elsevier [Volume 36, Issue 1](#): 55-61. Hospital Regional Río Grande "Nuestra Señora de la Candelaria", Río Grande, Tierra del Fuego, Argentina b Hospital Área Cipolletti – Dr. Pedro Moguillansky, Venezuela y Naciones Unidas, 8324 Cipolletti, Río Negro, Argentina c Brucellosis Service, National Laboratories and Institutes of Health Administration (ANLIS) "Dr. C.G. Malbrán", Avda. Velez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires, Argentina.
33. Spickler, Anna Rovid.. (2009) .Brucelosis canina: *Brucella canis* The Center for Food Security and and Public Healt. Collage of Veterinary Medicine Iowa State University, EEUU.pp 1-2. Disponible online: <http://www.cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets.php?Lang=es>
34. Valenzuela N, García P, Salgado S, Concha M, Abarca K, López J, et al.(2005) Seroprevalencia en humanos de *Brucella canis* en un grupo con exposición ocupacional. Libro de resúmenes XXII Congreso Chileno de Infectología, Puerto Varas. Resumen: CO37.
35. Wanke, M. M. (2004). Canine brucellosis. *Animal reproduction science*, 82, 195-207.

ANEXOS

ANEXO N° 1: Nota autorización de datos.



El esquiador 128 – Casilla de Correo 158
(8420) Río Grande – Tierra del Fuego
Tel: (02964) 5586873
E-mail: lab.diagnostico.tff@gmail.com

NOTA N° 77/20
LETRA: D.L.D
REF: Autorización

ANEXO N°2: Certificado de inscripción en Laboratorios de Red



SENASA
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA
DIRECCION DE LABORATORIOS Y CONTROL TECNICO

ANEXO
CERTIFICADO DE INSCRIPCION EN LA RED NACIONAL DE

ANEXO N° 3. **Modelo de consentimiento informado**

La presente investigación es conducida por los médicos veterinarios Sebastián Galateo, Julio Ruiz y Vilma Disalvo. Se llevará a cabo en la ciudad de Río Grande, entre los meses de marzo y septiembre de 2015. El objetivo de los investigadores es conocer la presencia de la bacteria de la brucelosis en la sangre una población de perros de la ciudad de Río Grande que ha sido seleccionada al azar para realizar este estudio de investigación. Los resultados serán de gran utilidad para conocer la magnitud del problema, para dirigir las acciones necesarias y colaborar en promover la tenencia responsable de mascotas. Usted podrá tener acceso a la información relacionada a los resultados de los análisis realizados a su mascota al finalizar el estudio. La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. Usted puede solicitar a los investigadores ampliar la presente información. La misma se mantendrá de manera absolutamente confidencial y no será utilizada para ningún otro propósito que no sea esta investigación. Sus datos serán codificados usando un número de identificación por lo que se manejarán de manera anónima. Acepto participar voluntariamente del estudio, permitiendo además que se le tome una muestra de sangre a mi perro.

Apellido y nombre del dueño o responsable.....
DNI.....
Domicilio.....
Tel:.....

Firma Profesional

Firma propietario/responsable

Mat. Prov. N°

Lugar y fecha:

ANEXO N°4. **Planilla de extracción de muestra de Zoonosis municipal**

Municipio de Río Grande
Tierra del Fuego

BRUCELOSIS CANINA

Planilla de Entrada

Protocolo N°:

Fecha:

DATOS DEL ANIMAL

Raza: Microchip:

Sexo:..... Edad: Castrado: Tamaño: Nombre del
can:

DATOS DEL PROPIETARIO

Apellido y Nombre: D.N.I.: Domicilio:
.....Teléfono: Sector:
.....Grupo Familiar:

Nivel Educativo	Fecha Nac.	Relación	D.N.I	Apellido y nombre

DATOS EPIDEMIOLOGICOS

Origen: Callejero: Zona Rural:

Semidomiciliario: Contacto con otros animales:

INFORME CLINICO

Antecedentes de signos: Si/No Descripción de signos:

Antecedentes de aborto/fertilidad: Si/No Observación:

Antecedentes de tratamientos:

DATOS DEL PROFESIONAL RESPONSABLE

Apellido y Nombre:..... Matrícula N°: Institución: Coordinación
de Zoonosis - Teléfono: 427685.-Dirección: 25 de mayo 2937

ANEXO N°5: **Laboratorio Red de Brucelosis**

RED NACIONAL DE BRUCELOSIS

1. INTRODUCCIÓN

Brucelosis es una enfermedad de origen zoonótico, conocida desde fines del siglo XIX, que afecta a la mayoría de las especies animales. El agente causal es el género *Brucella* que comparte la familia III Brucellaceae, junto a los géneros *Mycoplana* y *Ochrobactrum* del orden Rizhobiales. Es un patógeno intracelular facultativo con forma de pequeños cocobacilos gram-negativos de 0.5-0.7 x 0.6-1.5 µm que pueden estar en pares o en grupos. El género comprende 6 especies clásicas: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae* y 4 especies que emergieron recientemente *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti* y *B. inopinata*. En el hombre la enfermedad puede cursar en forma subclínica o con síntomas que se exteriorizan 2-3 semanas posteriores a la infección aunque en algunos casos el período de incubación puede ser mas prolongado.

Ocasionalmente, predomina el compromiso de algún órgano en particular y en ese caso la enfermedad se considera localizada. El contagio con *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* es por consumo de alimentos contaminados, por contacto directo o indirecto con animales infectados o por accidentes de laboratorio, mientras que el contagio con *B. canis* es a través de los perros infectados o de sus secreciones. Es una enfermedad de riesgo ocupacional que se controla en Bancos de Sangre. El servicio de brucelosis del INEI-ANLIS, fue creado en 1994 ante la necesidad de estandarizar el diagnóstico de esta enfermedad en el país. Hoy cuenta con una Red Nacional de Laboratorios provinciales capacitados para realizar el diagnóstico y a la vez supervisar el que se efectúa en los centros de salud de su región.

2. ESTRUCTURA

2.1 Referentes Nacionales

Dra. Nidia E. Lucero

ANLIS "Dr.C.G.Malbrán"

Avda. Vélez Sársfield 563

1281- BUENOS AIRES

Tel/Fax: 11 4301 7801

E-mail: nlucero@anlis.gov.ar

Bioq. Gabriela I. Escobar

ANLIS "Dr.C.G.Malbrán"

Avda. Vélez Sársfield 563

1281- BUENOS AIRES

Tel/Fax: 11 4301 7801

E-mail: gescobar@anlis.gov.ar

2.2 Laboratorios de la red

Laboratorios que integran la Red de Brucelosis						
Provincia	Localidad	Institución	Dirección	Responsable	Teléfono/Fax	E-mail
San Juan	San Juan	Hospital Marcial Quiroga	Libertador 5401 (5400)	Dr. Adrian G. Berbari	0264-422 2625	inmunoserologia@hotmail.com
San Luis	San Luis	Oficina Sanitaria	Junín y Falucho (5700)	Dr. Gustavo Rivero	02652-451 412	grivero70@yahoo.com
	Santa Fe	Programa Provincial Red de Laboratorios	Avda. Blas Parera 8260 (3000)	Dra. Elisa Ferrara	0342-457 9238 /9227	ferraraelisa@hotmail.com

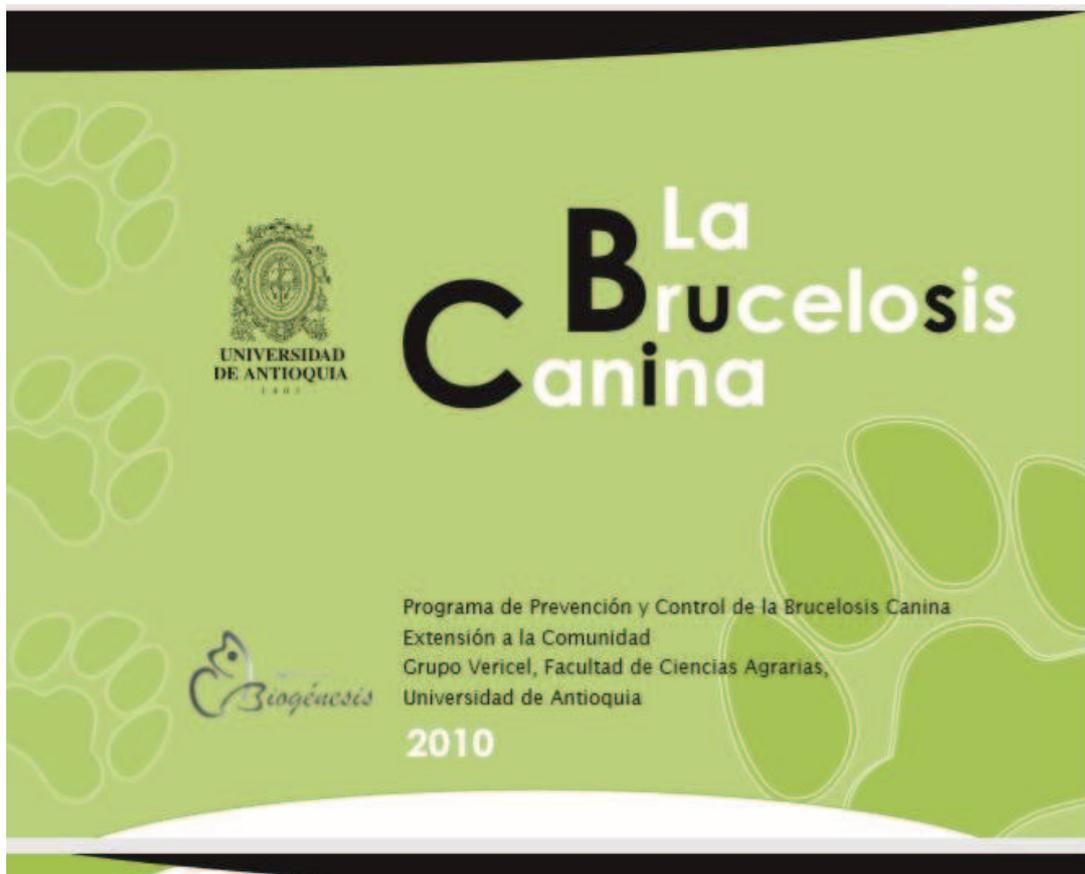
ANEXO N° 6. Informe de resultados Laboratorio de diagnóstico TDF “Dr. Raúl Chifflet”

**LABORATORIO
DE DIAGNOSTICO**
DR. RAÚL CHIFFLET



El esquilador 138 – Casilla de Correo 155
(9420) Río Grande – Tierra del Fuego
TE: (02964) 441-429 / 441024
E-mail: laboratorio@asociacionruraltdf.org

**DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS
INFORME DE RESULTADOS**



ANEXO N°4. Programa de Prevención y Control de la Brucelosis Canina

ANEXO N° 7: Programa Educativo

ISBN: 978-958-714-423-0

Universidad de Antioquia
Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Medicina Veterinaria
Grupo Vericel

Proyecto financiado por:
Vicerrectoría de Extensión
Universidad de Antioquia
Banco Universitario de Programas
y Proyectos de Extensión

Autores

Carlos Andrés Giraldo Echeverri- MV, MSc.



¿Qué es la brucelosis canina?



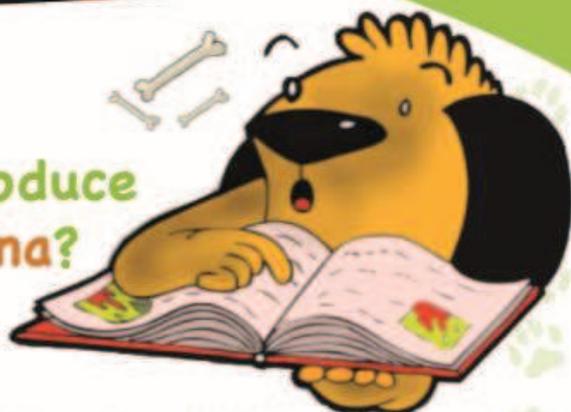
Es una enfermedad contagiosa que produce problemas reproductivos en los caninos.

La enfermedad genera **pérdidas económicas** en los criaderos caninos.

Es una **zoonosis** ya que se transmite a los humanos.



¿Quién o qué produce la brucelosis canina?

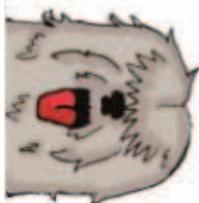


La *Brucella canis*.

Es una bacteria descubierta por Carmichael en 1966.

Pertenece a la familia de las *Brucella spp.*, que infectan a bovinos (*B. abortus*), cabras (*B. melitensis*), ovejas (*B. ovis*), cerdos (*B. suis*) y otros animales.

Estas bacterias permanecen dentro de las células del animal o del humano afectado, lo que genera que los tratamientos sean de muy poco éxito.



¿Cómo se infectan los caninos?

Se pueden infectar tanto las hembras como los machos, sin importar la edad que tengan o la raza a la que pertenezcan.

Se contagian por:



Vías de transmisión



¿Cómo se contagian los humanos?

Pueden infectarse al tener contacto con animales positivos que estén eliminando bacterias, en las siguientes situaciones:



¿Cuáles son los principales síntomas en los caninos?

- Aborto (cercano a la fecha de parto)
- Inflamación de los testículos
- Infertilidad: - Las perras no quedan preñadas
- Los machos no preñan



Si su perro presenta estos síntomas, consulte a su veterinario

- Camadas pequeñas, o con cachorros débiles, o que mueren pronto
- Inflamación de las articulaciones
- Fiebres intermitentes y decaimiento



¿Existen exámenes de laboratorio para saber si los perros tienen brucelosis canina?

Sí, en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de An-

1

Prueba de Aglutinación Rápida en Placa con 2b-Mercaptoetanol (PARP-2ME). Es una prueba que no encuentra la bacteria, pero sí sustancias (anticuerpos) producidas por el animal en respuesta al contacto con ella; y se realiza así:

- Recolección de sangre en un tubo sin anticoagulante.
- Separación del suero en el laboratorio.
- Adición de reactivos.
- Resultados.



Si el canino es **positivo**, significa que tiene anticuerpos. Si es **negativo**, es necesario repetirla en un mes para estar seguros.

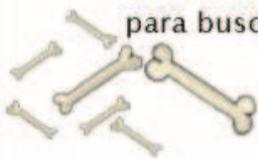


2

Hemocultivo. Se recomienda realizarla cuando el paciente es PARP-2ME positivo. Es una prueba en la que se cultivan las bacterias que pueden estar en sangre, y se realiza así:

3

Hay otras pruebas que estamos desarrollando para mejorar el diagnóstico de la enfermedad. Éstas son: **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)** para buscar la presencia del ADN de la bacteria en el canino, y la prueba de **Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)** para buscar otros anticuerpos.



¿Qué hago si tengo caninos con resultados positivos a brucelosis canina?



Medidas de prevención y control en los criaderos



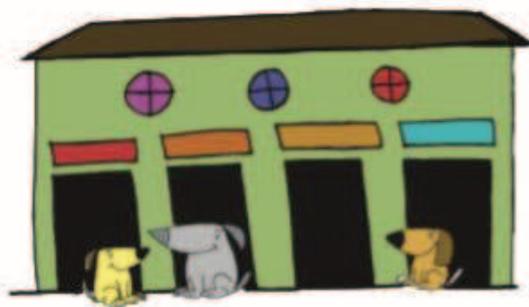
Con respecto a las instalaciones:

- El criadero debe tener una separación **apropiada de la vivienda**, que permita controlar el tránsito de los animales y las personas.
- Tenga instalaciones cómodas para los animales, con techos y aireadas; deben ser espacios amplios y con áreas definidas (**cuarentena, parto y maternidad, enfermería**).
- Procure que los materiales de sus instalaciones sean fáciles de lavar (**concreto, metal, baldosa**).



- Lave de forma periódica los corrales con detergentes (**que retiran las partículas de suciedad, como los jabones comerciales**) y luego use desinfectantes (**que matan a los microorganismos, como los productos con yodo, cloro o amoníaco**).

Utilice implementos de protección para



Con respecto al manejo de la enfermedad directamente:

a. Prevención y manejo de la enfermedad en el criadero

- Separe los caninos por razas, sexo, gestantes y enfermos. Mantenga un registro actualizado de la identificación y los datos reproductivos de cada uno de ellos. En lo posible, márquelos con un microchip.
- Esté atento a la presencia de síntomas compatibles con brucelosis canina y si tiene sospechas, solicite asesoría veterinaria.
- Siempre en el parto o en el aborto, separe la hembra de los demás y evite el contacto directo con los líquidos y fetos expulsados. Utilice elementos de protección personal.



- Siempre que vaya a comprar un perro para ingresarlo a su criadero, hágalo en un lugar con buen nivel sanitario y exija resultado negativo a *Brucella canis* con vigencia inferior a un mes.
- Utilice un espacio para la "cuarentena" don

- Para reproducir sus caninos, prefiera la inseminación artificial, exigiendo al macho prueba negativa a *Brucella canis*. Evite efectuar montas naturales.
- Descarte todos los animales positivos; por ningún motivo reproduzca perros que hayan dado un resultado positivo.

b. Recomendaciones con las mascotas

- Cuando vaya a adquirir mascotas, hágalo en sitios confiables y exija la prueba negativa a *Brucella canis*.
- En caso de que su mascota tenga brucelosis canina y usted no la quiera sacrificar, hágala esterilizar, siga las instrucciones de su veterinario en cuanto a tratamiento y sea cuidadoso al manipular excretas o secreciones de su mascota. **Recuerde que su mascota estará infectada toda la vida.**

