

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUYO
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Tesis de grado como requisito para obtener el título de Médico Veterinario

**“DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE *BRUCELLA CANIS* EN DOS
CRIADEROS DE LA CIUDAD DE SAN LUIS, ARGENTINA”**

-ALUMNO: Juan David Aballay

-DIRECTORA: Esp M.V. Paula Frigerio

San Luis, Argentina. 2024

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	4
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	5
Preguntas de Investigación	5
3. HIPÓTESIS	6
4. OBJETIVOS	6
Objetivo principal:	6
Objetivos secundarios:	6
5. MARCO TEÓRICO	7
Características de <i>Brucella canis</i>	7
Especies	9
Epidemiología	10
Transmisión	12
Patogenia	15
Signos clínicos	18
Diagnóstico	20
Tratamiento	28
Diagnósticos diferenciales	30
Prevención	31
Zoonosis	31
6. MATERIALES Y MÉTODOS	33
Selección de Criaderos y población de estudio	33
Obtención, procesamiento y análisis de muestras	34
Prueba Serológica (ELISA)	35
Materiales y reactivos	35
Procedimiento	37
Interpretación de resultados	39
Principio de la técnica	39
Expresión de los resultados	39
Interpretación de los resultados	40
7. RESULTADOS	41
8. CONCLUSIONES	47
9. BIBLIOGRAFÍA	49
10. ANEXOS	52

1. INTRODUCCIÓN

La *Brucella canis*, perteneciente al género *Brucella*, es la principal responsable de la brucelosis canina (23). La *B. canis* junto con cinco especies más, conforman el grupo de las denominadas *Brucellas* “clásicas” (21). Estas bacterias generalmente tienen restricciones en cuanto a su huésped, y esta característica ha sido utilizada como criterio para nombrarlas: *Brucella abortus* (bovinos), *Brucella canis* (caninos), *Brucella melitensis* (caprinos, ovinos), *Brucella neotomae* (roedores), *Brucella ovis* (ovinos) y *Brucella suis* (cerdos, bovinos y ungulados salvajes). (23) Además de la *B. canis*, la causa más común de brucelosis canina y la de mayor relevancia epidemiológica para esta especie, el perro puede sufrir infecciones ocasionales por *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*. (21, 24)

Una vez dentro del huésped, llegan a los linfonódulos regionales, como bacterias libres o dentro de células fagocíticas, y comienzan a multiplicarse (15). A partir de allí arriban a sangre, para dirigirse principalmente al tracto genital, ojo, discos intervertebrales y riñones. Una vez alcanzados estos tejidos, producen signos clínicos como abortos, infertilidad, epididimitis, orquitis, prostatitis, discoespondilitis, uveítis, linfadenopatías, entre otros. (8)

Llevar a cabo el diagnóstico de esta enfermedad es un desafío, ya que posee un amplio espectro de signos clínicos y por las limitaciones de las pruebas diagnósticas disponibles. (8)

La brucelosis canina está ampliamente distribuida en el mundo y, dadas las limitaciones al diagnosticarla con precisión, su potencial zoonótico convierte a la brucelosis humana asociada a *Brucella canis* en una enfermedad significativamente desatendida. (21)

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Actualmente no se conocen datos acerca de la prevalencia de *Brucella canis* en criaderos de perros en la ciudad de San Luis. En muchos de estos criaderos se llevan a cabo actividades que van desde cría y venta de cachorros, ocasionalmente perros jóvenes y adultos, hasta ofrecer servicios de monta e inseminación artificial, permitiendo así la salida de individuos o material biológico fuera de sus establecimientos. Bajo este contexto, desconocer la presencia de *B. canis* representa un riesgo debido a su impacto en la salud animal y humana, como también su impacto productivo en los establecimientos de cría.

El objetivo del presente trabajo es conocer el estado serológico de *Brucella canis* mediante la prueba serológica ELISA en dos criaderos caninos, los cuales a partir de ahora llamaremos criadero 1 y 2, y abordar las siguientes preguntas de investigación:

Preguntas de Investigación

1. ¿Existen perros seropositivos a *Brucella canis* en estos dos criaderos de la Ciudad de San Luis?
2. ¿Cuál es el número de seropositivos a *Brucella canis* en perros del Criadero 1?

3. ¿Cuál es el número de seropositivos a *Brucella canis* en perros del Criadero 2?
4. ¿Existen diferencias en el número de seropositivos a *Brucella canis* entre el Criadero 1 y el Criadero 2?

3. HIPÓTESIS

- ☐ Existen perros seropositivos a *Brucella canis* en criaderos de la Ciudad de San Luis.

4. OBJETIVOS

Objetivo principal:

Diagnosticar seropositivos a *Brucella canis* en dos criaderos de perros en la ciudad de San Luis.

Objetivos secundarios:

- ☐ Implementar la prueba serológica de ELISA para la detección de anticuerpos de *B. canis*.
- ☐ Comparar la prevalencia de *Brucella canis* entre los dos criaderos.
- ☐ Dar a conocer a los propietarios de los criaderos medidas de erradicación y prevención, según los resultados obtenidos en el muestreo.
- ☐ Dar a conocer a los propietarios de los criaderos la amenaza zoonótica de esta enfermedad.

5. MARCO TEÓRICO

La brucelosis canina es una enfermedad infecciosa, contagiosa, de curso subagudo o crónico (1). Es producida principalmente por la bacteria *Brucella canis*. Esta bacteria fue aislada y descrita por primera vez por Leland Carmichael en el año 1966 en Estados Unidos, al investigar una oleada de abortos en perros de raza Beagle (5).

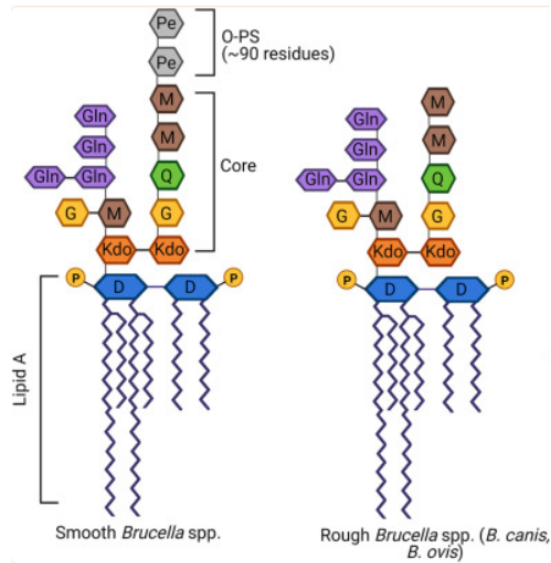
Actualmente esta enfermedad está distribuida por todo el mundo, y considerando su potencial zoonótico, cobra gran importancia al haber una estrecha relación entre el hombre y el perro. (21)

Características de *Brucella canis*

La *Brucella canis* es una bacteria gram-negativa, pequeña (1-1,5 μm de largo por 0,5 a 0,7 μm de ancho), de forma cocobacilar, inmóvil, no encapsulada, intracelular facultativa y no formadora de esporas (23, 8).

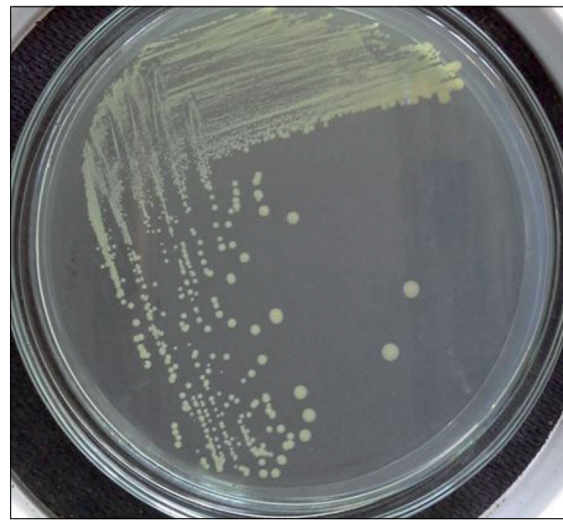
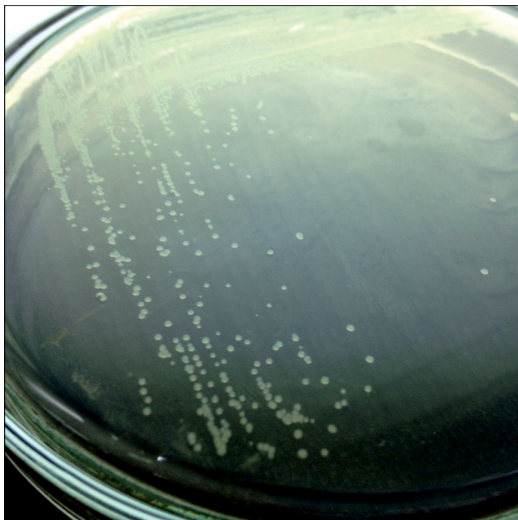
Su metabolismo es aeróbico y son catalasa y oxidasa positivas (4). Crece en medios de cultivo comunes, como el agar sangre, tripticasa soya o el agar triptófano, y no requiere CO₂ para su cultivo (27). Al producirse su crecimiento, forma colonias rugosas, esto sumado a en sus reacciones bioquímicas y antigénicas, hacen que se diferencie de sus demás compañeras de género (exceptuando a la *B. ovis*) (23, 27).

Las especies lisas poseen ese aspecto en el cultivo debido al lipopolisacárido (LPS) de su membrana externa, mientras que las cepas rugosas (*B. canis* y *B. ovis*) se caracterizan por carecer la cadena lateral mucoide de polisacárido "O" del LPS (1, 4). Esta es la razón por la que las pruebas serológicas para cepas lisas no son útiles para detectar anticuerpos de *B. canis*. (4)



Estructura esquemática del lipopolisacárido (LPS) de *Brucella* spp. comparando cepas lisas y rugosas.

(22)



En la imagen de la izquierda, colonias de *B. canis* en agar tripticasa soya. Se observan colonias pequeñas y traslúcidas (incubación de 72 horas), aisladas de orina de un perro aparentemente sano. En la derecha, luego de 6 días, se observan colonias de mayor tamaño y opacas. (4)

Especies

El género *Brucella spp* está compuesto por 12 especies clásicas, las cuales están basadas en una preferencia por el huésped, por características genéticas y fenotípicas: *Brucella abortus* (bovino), *Brucella canis* (caninos), *Brucella ovis* (ovinos), *Brucella melitensis* (caprinos, ovinos), *Brucella suis* (porcinos, bovinos y ungulados salvajes), *Brucella pinnipedialis* (pinnípedos), *Brucella ceti* (cetáceos), *Brucella neotomae* y *microti* (roedores y pequeños roedores), *Brucella inopinata* (huésped desconocido), *Brucella papionis* (primates babuinos), *Brucella vulpis* (zorros). (23).

Se desconoce aún la causa por la que exista dicha preferencia de huésped, a pesar de su gran similitud genómica. (23).

Como mencionamos previamente, la brucelosis canina es producida principalmente por la *Brucella canis*, pero los caninos son susceptibles también a la infección por *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*, aunque esto es sumamente raro. (21, 23). De igual manera, aquellos perros que llegan a ser infectados por estas especies de *Brucella*, no representan un riesgo en su diseminación y mantenimiento en la población. (10, 23).

Se ha descrito que la *B. canis* causa infección de forma natural predominantemente en perros y cánidos salvajes. (23, 8) En estudios serológicos se ha demostrado la formación de anticuerpos positivos en zorros y en coyotes. Estudios experimentales realizados en porcinos, ganado vacuno y ovinos, han demostrado que estos son altamente resistentes a esta bacteria. (8).

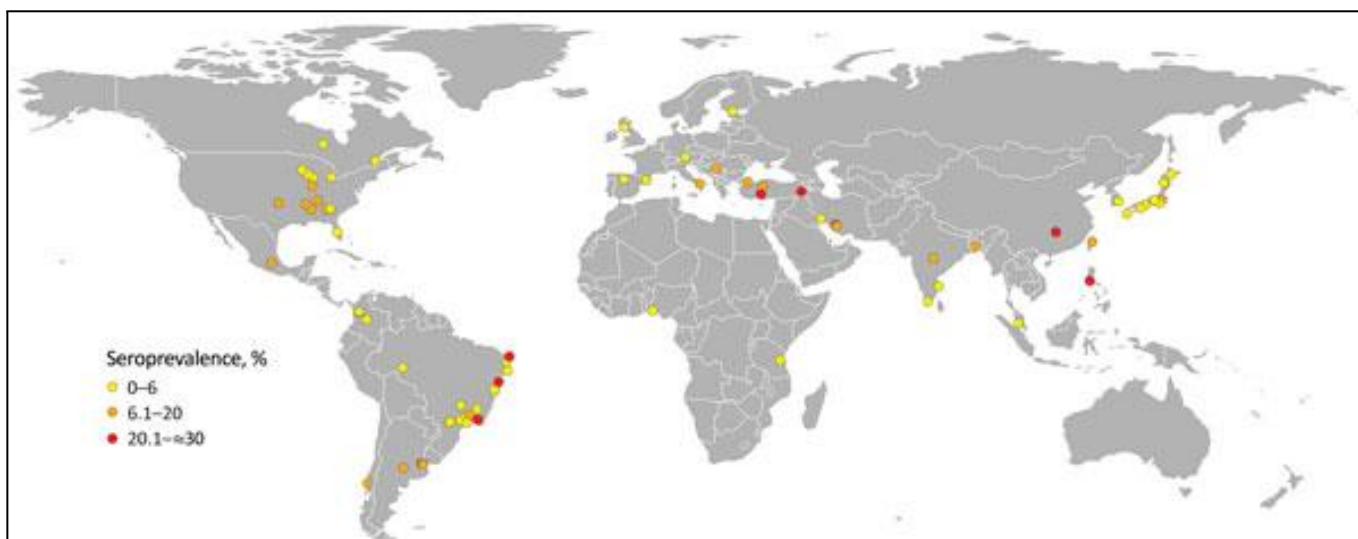
Otro estudio experimental indicó que los gatos son moderadamente sensibles luego de una exposición oral, llegando a desarrollar bacteriemia y leve formación de anticuerpos. Los seres humanos han mostrado ser capaces de contraer infección por *Brucella canis* luego del contacto directo con perros infectados, llegando a desarrollar una enfermedad clínica. (10)

Epidemiología

La brucelosis canina ha sido detectada en muchas partes del mundo, ya sea aislándola o sospechando su presencia debido a pruebas serológicas positivas (10). Es endémica en América, Asia y África, mientras que se considera a Nueva Zelanda y Australia como libres de brucelosis canina. (13, 23).

Mucha bibliografía apoya la idea de que la brucelosis canina es de distribución mundial, pero lo cierto es que no existen estudios concluyentes que informen la prevalencia real de esta enfermedad en el mundo (21).

En los últimos 30 años se han publicado diversos estudios serológicos, que han mostrado un rango de prevalencias muy variadas, incluso dentro de una misma región (13). Un estudio realizado por Hensel (Hensel et al. 2018), recopiló la información disponible sobre los diferentes estudios serológicos que se han realizado alrededor del mundo, arrojando una gama de prevalencias que van desde el 1 al 28%. La lista completa de seroprevalencias está adjunta en el **anexo 1**.



Cartografía de los estudios serológicos publicados sobre *B. canis*. Cada punto es un estudio publicado, y los colores indican que seroprevalencia tuvo cada uno. (Hensel et al. 2018) (13).

El rango de seroprevalencia previamente mencionado depende de múltiples factores, entre ellos están: qué tipo de prueba serológica se usa, cómo se la interpreta y de otras variables como las determinantes antigénicas, ya que la *B. canis* comparte antígeno con otros microorganismos que no son parte del género *Brucella*, y que pueden entorpecer los resultados (10).

No debemos dejar de lado el hecho de que los resultados suelen variar según la edad, condición de alojamiento y distribución geográfica del animal; siendo que se han encontrado prevalencias mayores en zonas de menores recursos económicos, posiblemente relacionado a una población y reproducción no controlada de perros (23). Se ha demostrado mayores frecuencias de seropositivos en perros callejeros frente a los que tienen dueño, algo directamente relacionado a la falta de cuidado de estos (21).

Con frecuencia, se observa que la prevalencia de brucelosis canina es mayor en criaderos de perros (15), lo que los convierte en una fuente potencial de diseminación de esta enfermedad. Esto es así debido a que su funcionamiento implica un contacto cercano entre perros, además de constantes traslados de estos para servicios reproductivos, su compra o venta (13).

Cualquier perro es susceptible a contraer brucelosis canina, ya sea los sexualmente activos, así como también los que nunca tuvieron actividad sexual pero han sido expuestos a fuentes de infección (15). Los cachorros pueden contraer la infección intrauterina, durante la lactancia o por un contacto estrecho con material infeccioso (24, 15). Existe una alta mortalidad neonatal de aquellos infectados, y los que logren sobrevivir representan un importante problema para los criaderos, porque serán portadores permanentes (21). Los perros infectados que no hayan alcanzado la madurez sexual, no serán fuentes de infección hasta que lleguen a ella (10).

En Argentina se han realizado varios estudios diagnósticos de brucelosis canina. Myers y Varela (1980) realizaron una detección serológica y bacteriológica en el partido de Moreno, Provincia de Buenos Aires donde encontraron que de 131 perros muestreados, el 30,5% demostró presencia de anticuerpos para *B. canis*, y se aisló la bacteria en un 6,2% de estos perros. Baruta y col (2001), utilizando el método serológico Inmunodifusión en gel de agar (AGID), encontraron que de 1.100 perros de General Pico provincia de La Pampa, 5,3% resultaron positivos, y de ellos se aisló la bacteria en el 27,6% de los casos. Boeri y col (2008) realizaron un estudio en barrios con alto nivel de necesidades insatisfechas de la ciudad de Buenos Aires donde, de 219 perros muestreados, en 7,3% de ellos se demostró la presencia de anticuerpos para *B. canis*, aislando la bacteria en un 1,37%. Un estudio realizado por López y col (2009) en Lomas de Zamora, Buenos Aires, demostró que de 224 perros muestreados, el 14,7% resultó positivo a la de Test rápido de aglutinación en placa (RSAT), y de ellos el 10,7% fue confirmado por Prueba de inmunoabsorbente ligado a enzimas indirecta (I-ELISA), aislando la bacteria en 2 casos. Prochazka y col (2017) en la ciudad de Bahía Blanca, Buenos Aires Argentina, encontraron que de 437 perros que acudieron a consulta entre los años 2013 a 2016, el 17% resultó positivo a la prueba de RSAT. Moncá (2022) realizó un estudio en 500 perros en Esquel, provincia de Chubut Argentina, donde un 4% resultó positivo a la prueba de RSAT y el 2,4 % positivo a la I-ELISA.

Transmisión

La brucelosis canina es la causa principal dentro de los trastornos reproductivos infecciosos de los perros, produciendo alteraciones tanto en machos como en hembras (23).

La *Brucella canis* puede causar infección por diferentes rutas, pudiendo penetrar las membranas mucosas conjuntival, oral y genital de su huésped susceptible (23, 15).

Por estas rutas va a producirse el ingreso de esta bacteria, siempre y cuando las fuentes contaminantes que las contengan posean una concentración suficiente para causar infección (23). Es aquí donde cobra importancia el concepto de dosis infectante, es decir, la concentración mínima de *B. canis* que contiene una fuente para causar infección. La dosis infectante mínima para la infección mediante la mucosa oral es de 10^6 unidades formadoras de colonias, (UFC), mientras que la conjuntival es de 10^{4-5} UFC, y la dosis infectante mínima para la membrana mucosa genital aún no está determinada, pero se cree que es un poco menor a las previamente mencionadas para las otras rutas (23, 10). Las principales fuentes de contaminación son las descargas vaginales, fetos abortados y placentas, semen y orina; siendo las más probables de éstas los restos de abortos, descargas vaginales y el semen, debido a que poseen mayor UFC en su contenido (23). Los restos de material abortado pueden tener hasta 10^{10} bacterias por mililitro, al igual que las descargas vaginales, que pueden continuar eliminándose así por más de 6 semanas post aborto (15, 10, 23).

Las hembras con brucelosis pueden transmitir la bacteria durante el proestro, estro, durante el apareamiento o después de un aborto por el contacto con fluidos vaginales (23, 10). La leche de las perras infectadas contiene un número de UFC inferior, y parece ser una causa secundaria para que los cachorros que logran nacer a pesar de la infección sean portadores de la enfermedad, ya que principalmente la infección de éstos se da de forma transplacentar (23, 21). Pero algunos autores consideran que, si bien la causa principal en la transmisión de *B. canis* a cachorros no es la lactación, la leche sí representa un riesgo en la diseminación de esta bacteria al ambiente (6, 23).

La orina y el líquido seminal han demostrado ser fuentes importantes de transmisión por parte de los machos infectados, ya que la *B. canis* se aloja en la próstata y en el epidídimo. La concentración de la misma en el semen es alta durante las primeras 6 a 8 semanas post infección, liberándose *B. canis* de forma intermitente hasta 2 años post infección (23, 10).

En el caso de la orina, se han llegado a encontrar concentraciones de 10^3 a 10^6 UFC/ml en el caso de los machos, un número significativamente mayor que en el de las hembras, empezando a excretarse en ella entre la semana 4 a 8 desde la aparición de la bacteriemia y durando hasta al menos 3 meses post infección (23, 10). Esto cobra sentido si consideramos lo previamente mencionado sobre la ubicación de la *B. canis* en el epidídimo y en la próstata, órganos que se encuentran íntimamente asociados. Por esto último, la castración es una medida de gran ayuda para disminuir la eliminación de la bacteria en la orina, aunque no es definitiva (24).

Debemos resaltar que, aunque son muy poco frecuentes, existen otras fuentes y rutas de infección, como sucede a través de la transfusión sanguínea, restos de procedimientos de vaginoscopia, uso de jeringas reutilizadas, materia fecal, secreciones nasales y oculares. En cuanto a la transmisión artificial, debemos considerar que el uso de semen para realizar inseminación artificial también representa una fuente posible de infección (23). La transmisión por medio de garrapatas y pulgas no ha sido confirmada, aunque sí se ha aislado a la *B. canis* en estos parásitos (21).

Con respecto a la sobrevivencia que tiene la *B. canis* fuera de sus hospedadores, posee una vida corta y se inactiva fácilmente con desinfectantes comunes, como lo son el etanol al 70%, soluciones de yodo/alcohol, hipoclorito de sodio al 1%, compuestos de amonio cuaternario y peróxido de hidrógeno acelerado (23).

Patogenia

La *Brucella canis* ingresa al huésped penetrando cualquiera de las membranas susceptibles previamente mencionadas (17). Una vez dentro, son fagocitadas por macrófagos y demás células fagocíticas, pero estas bacterias intracelulares tienen la capacidad de inhibir la formación del complejo fagolisosoma, impidiendo así que actúen las enzimas lisosomales (1). Esto les permite sobrevivir facultativamente dentro de las células, así como también reproducirse dentro de su retículo endoplasmático (23, 24). Esta capacidad de supervivencia se explica porque inhiben el sistema bactericida de la mieloperoxidasa-peróxido-haluro al liberar 5'-guanosina y adenina (24).

Son transportadas dentro de estas células (algunas como bacterias libres) hacia los ganglios linfáticos regionales, se replican ahí produciendo una hiperplasia en ellos (23, 21). También llegan a órganos como el hígado, bazo y posiblemente la médula ósea (8).

Luego de 7 a 30 días post infección, la *Brucella* alcanza la sangre, dando lugar a una bacteriemia asociada a leucocitos que puede llegar a durar desde 6 a 64 meses (23, 1). Esta bacteriemia es constante durante el proceso agudo, pero se vuelve intermitente en el curso crónico de la enfermedad (10).

Durante este período, va a colonizar diferentes órganos, provocando en ellos infiltración de células inflamatorias (linfocitos, plasmocitos e histiocitos) (1, 8). La *B. canis* posee una preferencia por aquellos tejidos dependientes de esteroides, como lo son los tejidos reproductivos (23). Es por esto que, luego de alcanzar la sangre, se dirigen a órganos como el útero, testículos y epidídimos, próstata y placenta.

Aunque generalmente los encontramos dentro de las células fagocíticas, las brucelas pueden invadir otras células, como es el caso de las células del epitelio placentario (23). Podemos encontrarlas en el retículo endoplasmático de

células gigantes trofoblásticas de la placenta de un útero grávido, llevando a una placentitis necrotizante severa, necrosis de las vellosidades coriónicas y arteritis necrotizante que termina en muerte del feto. El útero de las hembras no preñadas o en diestro no es un sitio que favorezca la presencia de *Brucella canis* (23, 24).

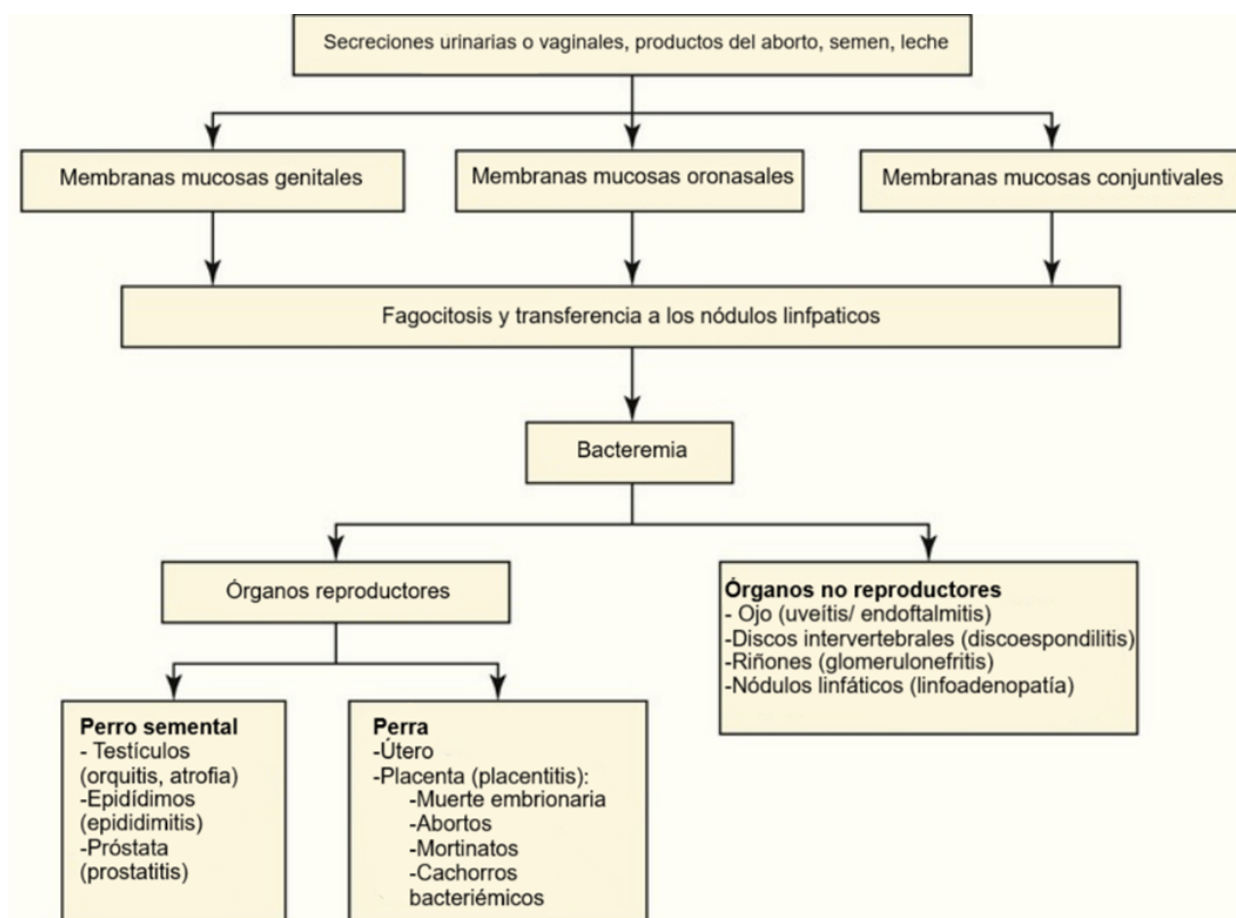
En el caso de los machos, la *B. canis* afecta las áreas del tracto reproductivo en donde se produce la síntesis, maduración, transporte y almacenamiento de los espermatozoides (23). Produce una vasculitis necrotizante e inflamación granulomatosa que inicia afectando a los epidídimos, y luego se extiende hacia los testículos (24). Este daño producido en ambos, es el que permite que se liberan espermatozoides y se expongan al sistema inmunológico del perro, quien se encargará de sintetizar complejos anti-espermatozoides, y generar reacciones de hipersensibilidad retardada contra los mismos (23). Este proceso anteriormente descrito, contribuye a que el proceso inflamatorio en testículo y epidídimo se vea exacerbado, alterando así la espermatogénesis correcta y, concluyendo al final, con una atrofia testicular (24).

A medida que la bacteriemia permite la distribución de las *Brucellas* y de complejos antígeno-anticuerpo, diferentes órganos no reproductivos como los discos intervertebrales, ojo, riñón y meninges comienzan a verse afectados (8, 23).

La seroconversión inicia de la semana 2 a 4, y puede llegar a durar hasta la semana 8 a 12 post infección. La bacteriemia luego de 3 a 4 meses disminuye, pero la *B. canis* persiste en la sangre o es secuestrada en tejidos. Actualmente se cree que la respuesta inmunitaria mediada por células elimina la infección en 2 a 3 años en promedio; por otro lado la respuesta humoral no la elimina lo que da como resultado perros infectados persistentemente (8).

Esta recuperación puede producirse pero dado al comportamiento de la enfermedad, es muy difícil determinar una eliminación total de la *B. canis* (23,

24). Las hembras que han sido tratadas con antibioticoterapia es posible que den a luz y no aborten, pero todavía es posible que transmitan la enfermedad a sus cachorros. En el caso de los machos, aunque hayan sido tratados con antibióticos, es posible que el daño que produjo el proceso inflamatorio haya causado daños irreversibles en la síntesis de espermatozoides (23, 24).



Patogénesis de brucelosis canina. Figura adaptada de Ettinger (2017) (11)

Signos clínicos

La brucelosis canina posee una alta morbilidad pero baja mortalidad. (23, 24) Si bien esta enfermedad está relacionada con anormalidades reproductivas, puede darse el caso que un animal no muestre ningún signo clínico y curse la enfermedad de forma asintomática, o puede manifestar signos clínicos inespecíficos como letargia, pérdida de peso, intolerancia al ejercicio y linfadenopatía (especialmente de los submandibulares, retrofaríngeos e inguinales) (8, 15). Es raro encontrar pacientes con fiebre (27).

En hembras preñadas, el signo principal es el aborto tardío, entre el día 45 a 59 de gestación (10, 24). Los fetos abortados suelen estar parcialmente autolizados, y poseen características típicas de un aborto de origen bacteriano: edema subcutáneo, congestión y hemorragia en el abdomen subcutáneo, lesiones degenerativas en riñones, bazo e intestino (27, 15). Luego del aborto, se produce una descarga vaginal marrón-grisácea que persiste hasta 6 semanas post aborto (10). La muerte y reabsorción embrionaria, comúnmente diagnosticadas como fallos en la concepción, ocurren si la perra se expone a *B. canis* hasta 20 días después de la transmisión (8, 10).

Pueden ocurrir abortos consecutivos en aquellas hembras portadoras, así como también alternar con gestaciones con aparente normalidad, es decir, es posible que a pesar de estar presente la enfermedad, se produzca el nacimiento del cachorro (12). Muchos de estos cachorros nacen débiles y mueren en las primeras horas o días de vida, mientras que aquellos que sobreviven tienen un aspecto aparentemente sano aunque sean portadores de esta enfermedad que más adelante en su vida van a manifestar (10,8). La infección por *Brucella canis* no genera una alteración del ciclo estral de las perras (10).

En el caso de los machos, los signos clínicos son principalmente testiculares, pudiéndose observar epididimitis, prostatitis y, con menor frecuencia, orquitis (23, 15, 8). Es común que el primer signo detectado sea una dermatitis escrotal

secundaria al lamido (15). En la fase aguda, el epidídimo aumenta de tamaño y puede manifestarse dolor en el paciente. La *B. canis* genera una alteración de la barrera hematotesticular, dando lugar a la formación de anticuerpos aglutinantes anti-espermatozoides, llevando así a una respuesta de hipersensibilidad retardada que conduce a un detenimiento de la espermatogénesis y causando infertilidad (8). En un curso crónico de la enfermedad, el epidídimo disminuye su tamaño y se endurece, y los testículos suelen mostrar atrofia (27).

Al verse afectado el testículo, se produce una alteración en la producción de espermatozoides, dando lugar a una disminución en la calidad y fertilidad del semen, así como también presencia de glóbulos rojos y blancos (23, 24, 1). Se ha descrito presencia de aglutinación espermática, presencia de colas dobladas y dobles, gotas protoplasma retenidas y deformación del acrosoma, y en cursos avanzados llegar a tener azoospermia (15, 1). Estos cambios pueden empezar a partir de las 2 semanas post infección, llevando a una afectación del 90% de los espermatozoides observados alcanzadas las 20 semanas (15). Se han descrito machos que no han tenido una disminución de la fertilidad y anomalías en los espermatozoides, aunque aún son capaces de transmitir la enfermedad al liberar la bacteria en el semen (8).

A medida que la infección va progresando, ambos sexos pueden desarrollar esplenomegalia, alteraciones oculares como coriorretinitis y uveítis, así como también problemas ortopédicos como cojeras, debilidad muscular, dolor en la espalda baja o cuello y disfunciones neurológicas (Ej. parálisis de miembros posteriores) que pueden estar asociados con compresión espinal (15, 23, 24).

Los signos clínicos ortopédicos están relacionados con la osteomielitis vertebral y la discoespondilitis (10). Estas se manifiestan más comúnmente en machos,

ya que la próstata puede actuar como reservorio de la *B. canis*, permitiendo así una bacteriemia intermitente (15).

Diagnóstico

La prueba diagnóstica gold standard para la brucelosis canina es el aislamiento bacteriano. Pero no siempre es posible aislar a la *B. canis*, dando lugar a que no sea posible llegar a un diagnóstico definitivo (27). Es por esto que para lograr su diagnóstico, es necesario combinar los datos clínicos con pruebas de laboratorio para aumentar las probabilidades de realizar un diagnóstico certero (24).

Anomalías de Laboratorio

Es frecuente que las pruebas de rutina, como lo son el hemograma, bioquímica sanguínea y el urianálisis se encuentren dentro de los valores normales en perros infectados (24). En ocasiones podemos encontrarnos con hallazgos inespecíficos como neutrofilia, monocitosis y/o linfopenia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia (23, 24). El análisis de orina generalmente suele estar normal, inclusive cuando hay eliminación de *B. canis* en ella (24).

Diagnóstico Serológico:

Como mencionamos previamente, los anticuerpos en general empiezan a producirse de la semana 2 a 4 post infección (27). Estos anticuerpos se generan contra antígenos de la pared y también del citoplasma de la *Brucella canis* (27). Los producidos a partir de antígenos de pared suelen aparecer antes, pero una vez terminada la bacteriemia, desaparecen al poco tiempo (aprox 4-6 meses); mientras que los anticuerpos contra antígenos citoplasmáticos tienen durar de 6 meses a 1 año post infección y son muy útiles en casos crónicos (27, 6). El título de anticuerpos puede fluctuar, por más que

persista la bacteriemia, y su magnitud no es indicador de la etapa en que se encuentra la enfermedad ni de una buena respuesta a un tratamiento (10, 15). Cabe aclarar que estos anticuerpos no protegen al perro contra la enfermedad clínica (15).

Aunque las pruebas serológicas pueden dar un resultado positivo desde la semana 2, en donde se empiezan a producir anticuerpos, en ocasiones puede llegar a tardar de 8 a 12 semanas en dar ese resultado (15). Es por esto que los resultados serológicos negativos no son confiables antes de las 12 semanas post infección, debido al riesgo de que ese paciente dé un falso negativo al encontrarse en seroconversión (8, 15). También debemos considerar lo que ocurre con los falsos negativos de los pacientes crónicos, donde los títulos de anticuerpos circulantes son bajos (8).

Los falsos positivos son producto de que las IgM reaccionan de forma cruzada con otras bacterias, incluyendo dentro de estas a los estafilococos estreptococos, pseudomonas aeruginosa, Bordetella bronchiseptica, Actinobacillus equuli, Streptococcus, Staphylococcus y Moraxella (8, 27). Para descartar que este sea el caso, se recomienda repetir al menos 15 días después la prueba, para así asegurarnos que ese falso positivo es producto de una reacción cruzada y no de una infección temprana, donde todavía no había ocurrido el cambio de Ig M a Ig G (27).

Por todo lo mencionado previamente, una prueba screening debe ir seguida de una prueba confirmatoria (8). A continuación desarrollaremos las pruebas serológicas más utilizadas en la actualidad.

La aglutinación rápida (RSAT) es una prueba rápida (2 minutos aprox.), económica y fácil de realizar e interpretar (15, 10). Es una prueba que tiene un 99% de sensibilidad (probabilidad de que una prueba no dé lugar a falsos negativos), pero posee una especificidad (probabilidad de que la prueba no de falsos positivos) baja, estando esta en un rango de 20-50% (10).

Para reducir el número de falsos positivos, se modificó la prueba al añadir el 2-mercaptoetanol (ME-RSAT), este produce una inactivación de los anticuerpos IgM, que son menos específicos y los causantes de que se produzca reacciones cruzadas con otras especies de bacterias previamente mencionadas (10, 24). El RSAT utilizaba *Brucella ovis* teñido con rosa de bengala como antígeno en un inicio, siendo luego reemplazado por un antígeno derivado de *B. canis* en fase mucoide, que ha demostrado disminuir los falsos positivos en un 10%. Comparando ambas, un estudio mostró que la sensibilidad del ME-RSAT fue solo del 32% comparado con el 71% del RSAT. Esto indicaría que el RSAT puede ser preferible para el screening, mientras que el ME-RSAT serviría para confirmación (24). Si al testear un perro, este da como resultado negativo al RSAT, es probable que sea negativo; mientras que si da positivo al RSAT, se requieren más pruebas para confirmar la infección por *B. canis* (15).

La prueba de aglutinación en tubo (TAT), es una prueba que consiste en la adición de una dosis fija de antígeno de *Brucella canis* (inactivada por calor) a distintas diluciones del suero a probar (10). Provee resultados semicuantitativos, es capaz de detectar el título de anticuerpos que posee el animal (15). Se considera que valores superiores a 1:200 son evidencias de infección activa, y este resultado tiene una buena correlación con los cultivos sanguíneos positivos, pero en el caso de los títulos más bajos a 1: 200, estos son más difíciles de interpretar (24, 10,15). Las muestras de suero se consideran negativas cuando el título de aglutinación es inferior a 1:50; mientras que si se encuentran entre 1:50 y 1:200 se consideran sospechosas, y se recomienda repetir el estudio luego de 2 semanas (10, 27). Se trata de una prueba de no muy alta especificidad, que da lugar a falsos positivos. Para disminuir las reacciones cruzadas con bacterias de otras especies, algo similar a lo que ocurre con la RSAT, existe una versión de TAT modificada que incluye

2-mercaptoetanol (ME-TAT) que aumenta la especificidad de esta prueba (10). No existen pruebas comerciales de TAT disponibles en el mercado (15). En países como Estados Unidos, ya no se realiza el 2ME-TAT en laboratorios, ya que se prefiere usar el 2ME-RSAT que posee la misma precisión diagnóstica. Sólo se utiliza en algunos criaderos que tienen casos de brucelosis y que desean evaluar la respuesta al tratamiento, aunque esta práctica aún no ha sido validada (10).

Otro método serológico disponible es el ensayo de inmunodifusión en gel de agar (AGID). A día de hoy existen dos tipos disponibles de ensayos AGID: uno que usa antígenos de la pared celular como sustrato (AGIDcwa) y otro que utiliza antígenos citoplasmáticos de *Brucella* como sustrato (AGIDcpa) (24). El ensayo AGID citoplasmático es altamente específico para anticuerpos contra *Brucella*, convirtiéndose en una prueba confirmatoria útil para aquellos que resultaron positivos en otras pruebas serológicas rápidas como el RSAT o ME-RSAT (24,27). Los resultados positivos se observan de la semana 8 a 12 y permanece positivo incluso pasados 12 meses del cese de la bacteriemia; esto puede llegar a ser una desventaja en caso de querer confirmar un cuadro agudo y es más útil en casos crónicos (15). Por otro lado, el ensayo AGID de pared celular tiene baja especificidad y sufre de los mismos problemas que los métodos descritos previamente que detectan antígenos de otras especies de bacterias (24, 10). Las pruebas se vuelven positivas a este AGID de pared a partir de 8 a 12 semanas post infección, permaneciendo positivos de 3 a 4 años (10). Para poder realizar un ensayo AGID es necesario contar con equipamiento específico y un personal de laboratorio capacitado (10, 15).

La inmunofluorescencia indirecta (IFA) es una prueba que puede considerarse una alternativa al RSAT y al TAT. Tiene una menor sensibilidad que muchas de

las demás pruebas serológicas, habiendo arrojado en múltiples estudios una gran cantidad de falsos positivos (24, 27, 10).

Todas estas pruebas descritas previamente, fueron resumidas por Cosford (2018) en la **tabla 1**, en un estudio que compara las pruebas serológicas tradicionales para brucelosis canina.

Test	Antígeno	Sensibilidad	Especificidad	Cómo usarlo
		Moderada a alta	Baja a moderada	
RSAT	B. ovis, B. canis (M-)	Estudios antiguos sugieren alta nuevos sugieren un 70,58%	Estudios antiguos sugieren 40-50% nuevos sugieren un 83,34%	Screening
2-ME-RSAT	B. canis (M-)	Más bajo que RSAT (31.76% vs 70.58%)	Más alta que la RSAT (100% vs 83.34%)	Confirmatoria
TAT	B.canis	Alta	Baja	Screening
IFA	Inmunoglobulina IgG	Desconocida	Desconocida	Screening
AGIDcwa	Antígeno lipopolisacárido de pared	Alta	Menor que la AGIDcpa	Screening
AGIDcpa	Proteínas citoplasmáticas libres de LPS extraídas de B. canis o B. abortus	Baja 52.94% de sensibilidad 47.06% de falsos negativos	Alta - 100%	Confirmatoria

Tabla 1. Comparación de las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico de B. canis. Cosford 2018 (8)

Actualmente se están desarrollando nuevos métodos diagnósticos para *Brucella canis*, y el foco está puesto principalmente sobre ensayos de ELISA y PCR. (8). La especificidad y sensibilidad de las pruebas de ELISA dependen del antígeno usado. Existen pruebas de ELISA que se han desarrollado usando antígenos de pared de la *B. canis* (cepas M- y RM66/6) así como también antígenos citoplasmáticos de *B. abortus*, antígenos extraídos con solución salina caliente, entre otros más que se resumen en la **tabla 2** (8, 21). Los que son realizados con antígenos de *B. abortus* tienen la peculiaridad de no ser reactivos con antígenos de otra especie que no sea del género *Brucella*, pero sí hay reactividad cruzada entre las especies del género (27, 10).

Antígeno	Sensibilidad	Especificidad
Proteínas citoplasmáticas de <i>B. abortus</i> libres de lipopolisacáridos	92%	96.7%
Extracto salino caliente de <i>B. canis</i> que contiene antígenos de membrana externa	92%	94.3%
Luminaze sintasa de <i>Brucella sp.</i>	81%	96.7%
Proteína citoplasmática 18 kDa de <i>B. canis</i>	87%	98%
Extracto de células enteras de <i>B. canis</i> usado como antígeno en fase sólida	95%	91%
Extracto bacteriano soluble en calor aislado de <i>B. canis</i>	91.18%	100%
Antígeno de la cepa M- de <i>B. canis</i>	100%	98.8%
Antígeno de la cepa n.º 11 de <i>B. ovis</i>	100%	98.8%
Antígeno de la cepa RB51 de <i>B. abortus</i>	100%	98.8%

Tabla 2. Ensayos ELISA para el diagnóstico de *B. canis*. Cosford 2018 (8)

Las técnicas de PCR que se han diseñado permiten la detección del ADN de *Brucella canis* en muestras de sangre, orina, semen y secreciones vaginales. Y este método ha demostrado ser más sensible y específico que las pruebas serológicas y los hemocultivos, permitiendo que se convierta en una prueba confirmatoria para perros seropositivos. Su costo y requerimiento de equipo pueden hacer de ésta una prueba difícil de acceder (8, 15).

Primers dirigidos a:	Detección: género o especie	Muestra	Sensibilidad	Especificidad
Región interespecial del ADNr 16S-23S	Género <i>Brucella</i>	Sangre entera	100%	100%
Región interespecial del ADNr 16S-23S	Género <i>Brucella</i>	Hisopado vaginal	No disponible	No disponible
Región interespecial del ADNr 16S-23S	Género <i>Brucella</i>	Semen	No disponible	No disponible
Secuencia de ARNr 16S	Género <i>Brucella</i>	Sangre entera	100%	100%
Región interespecial del ARNr 16S-23S	Género <i>Brucella</i>	Linfonódulo inguinal	100%	100%
Región interespecial del ARNr 16S-23S	Género <i>Brucella</i>	Sangre entera, suero	Sangre entera: 97,14% Suero: 25,7%	Sangre entera: 100% Suero: 100%
Fragmento del espaciador intergénico IS711	Género <i>Brucella</i>	Machos: hisopado prepucial, orina o semen. Hembras: hisopado vaginal	No disponible	No disponible
Fragmento de gen en el cromosoma 1	Especie <i>Brucella canis</i>	Machos: hisopado prepucial, orina o semen. Hembras: hisopado vaginal	No disponible	No disponible
PCR cuantitativa de ADN de la proteína 25 de la membrana externa de <i>B. canis</i>	Especie <i>Brucella canis</i>	Hisopado vaginal, sangre entera	Hisopado vaginal: 92,31% Sangre entera: 16,6%	Hisopado vaginal: 51,9% Sangre entera: 100%
Región BCAN_B0548-0549 en el cromosoma 2 de <i>Brucella canis</i>	Especie <i>Brucella canis</i>	Sangre entera	No disponible	No disponible

Tabla 3. Ensayos PCR para detectar *B.canis* (Cosford 2018) (8)

Al momento de plantearnos cuándo usar cada una de estas pruebas, debemos de tener en mente que hay dos enfoques en los que podemos usarlas. La primera, en forma de prueba screening en criaderos o refugios en donde muestreamos a perros aparentemente sanos para detectar alguno que presente la enfermedad. La segunda forma es en el caso de que nos enfrentemos a perros en los que queremos confirmar si tienen la enfermedad porque manifiestan signos clínicos que así lo sugieren, o porque dieron positivo a una prueba screening (23).

Cuando queremos realizar un screening, vamos a muestrear a las perras sanas al menos 1 mes antes de una cría planificada o antes de incorporar una al criadero, usamos una prueba serológica de baja especificidad como el RSAT. (24) En el caso de los machos sanos y fértiles, les debemos realizar una prueba de screening de forma anual con el RSAT. Otras pruebas usadas como screening son el TAT y la IFA (8).

Si el animal resulta positivo a la prueba de RSAT, se debe realizar un ensayo confirmatorio, es decir, pruebas más específicas como lo son el ensayo AGID citoplasmático, ELISA, cultivo sanguíneo (puede llegar a tener baja sensibilidad) o un PCR (24).

Cultivo y aislamiento

Como mencionamos al inicio, el aislamiento bacteriano es la prueba gold standard para diagnosticar esta enfermedad, es la única forma de confirmar que el animal está infectado por *Brucella canis* (27). Se puede realizar un cultivo de muestras frescas; como la sangre, placenta, restos de tejidos abortados, descargas vaginales, orina, semen y leche; así como también de muestras tomadas en necropsias; como aspirados de disco intervertebral, muestras de bazo, próstata, útero, linfonódulos y médula ósea (10).

Al momento de realizar un hemocultivo, debemos tener en cuenta que la bacteriemia inicia desde la semana 1 a 4 post infección, y tiene una duración que va desde la semana 6 a 64, pero a medida que se vuelve un proceso crónico, la misma se torna intermitente (21). Este es el mejor método para diagnosticar la bacteria en estadíos agudos de la enfermedad, pudiéndose aislar con cierta facilidad en los perros bacterémicos (que no han recibido tratamiento antibiótico) en los 2 primeros meses post infección (24, 27, 10). Pasados los 2 primeros meses de infección, muchos perros pueden cursar con abacteremia (24).

Es importante destacar que el cultivo tiene una sensibilidad baja, pudiendo dar lugar a falsos negativos. (21) Entonces un resultado negativo no confirma la ausencia de infección, debido a que la sensibilidad del aislamiento depende de muchos factores, como la concentración de la bacteria en la muestra seleccionada (la bacteria puede no encontrarse de forma temporal en ella), que se haya instaurado un tratamiento antibiótico en el paciente, la calidad de las muestras, y el manejo de laboratorio. (10, 27)

Las muestras para cultivo deben ser enviadas de forma estéril en un vial de cultivo estándar o en un tubo de tapa verde (heparinizado), almacenado de forma refrigerada (no congelada) y enviarse dentro de las primeras 24 horas de haberse obtenido (8).

Los posibles resultados del cultivo, considerando el material y el momento de toma de muestra, están resumidos en la **tabla 4** (Feldman 2015) (25).

TABLE 26-2 CONFIRMATION OF *BRUCELLA CANIS* INFECTION

Material To Culture	Time To Culture	Likely Results
Postabortion discharge	Whenever present	+++
Placenta	Whenever present	++
Abortus	Whenever present	May be negative
Semen	3-11 wk PI	+++
	12-60 wk PI	Lower numbers
	>60 wk PI	-
Blood	5-30 wk PI	"100%" +
	After 30 wk	Intermittent
	6-12 mn PI	>80% +
	28-48 mn PI	50-80% +
	48-58 mn PI	25-50% +
Epididymis	>58 mn PI	<25% +
	35-60 wk PI	50-100% +
	>100 wk PI	-
Urine	8-30 + wk PI	More organisms shed by male than female
Prostate	Up to 64 wk	Usually +
Lymph node, spleen, marrow	When bacteremic:	Usually +
	When abacteremic:	+/-
Eye	With uveitis	+++
Intervertebral disc	Discospondylitis	+/-

From Johnson CA, et al: Diagnosis and control of *Brucella canis* in kennel situations. Proceedings of the Society for Theriogenology, 1991, p 236. Used with permission.

PI, Postinfection; wk, weeks; mn, months; +, positive; -, negative.

Tabla 4. Posibles resultados del cultivo de *B. canis* en relación al momento en que se realiza y al material en examen (Feldman 2015) (25)

Tratamiento

Ninguna terapia con antibióticos ha demostrado ser efectiva en eliminar de forma definitiva la infección (15, 27). Esto debido a que la *Brucella* es una bacteria intracelular, lo que dificulta la llegada de los antibióticos, y además posee una capacidad de producir períodos intermitentes de bacteriemia (24, 10). Existen estudios que indican que la terapia con antibióticos disminuiría los títulos de anticuerpos, pero sin eliminar la infección, incluso dando lugar a recaídas (24). Esto hace que la terapia única con antibióticos no esté recomendada (15).

Existen posturas estrictas que recomiendan la eutanasia de aquellos perros positivos, al ser una enfermedad zoonótica de difícil eliminación y tener una cura muy dificultosa de determinar (8, 24). Esta decisión en muchos casos no es una opción aceptable para los propietarios de mascotas o dueños de criaderos pequeños, por lo que en esos casos se opta por realizar tratamientos antibióticos sumado a otras medidas (24, 8, 27). La castración disminuye la eliminación de *Brucella* en semen y descargas vaginales, pero se ha demostrado que ésta puede seguir siendo excretada en orina y hasta incluso vuelve a producir bacteriemia, pudiendo ser una fuente de infección para perros y humanos susceptibles (10, 24, 27).

Estudios han demostrado que el tratamiento combinado de antibióticos ha dado mejores resultados que la monoterapia (8, 23). Los protocolos de tratamiento suelen ser largos y de un costo elevado, que sumado a la posibilidad real de que no sea exitoso, suele ser algo desalentador para los propietarios (10, 8). No existe un protocolo universal acerca de la duración del tratamiento ni de qué antibióticos elegir (8).

La combinación de tetraciclinas (como la doxiciclina y minociclina) durante al menos 1 a 2 meses, junto con aminoglucósidos (como la estreptomicina o gentamicina) durante la primera y segunda semana de tratamiento, se considera la terapia con mejores resultados (10, 8, 23). Existen autores que recomiendan el uso de dos períodos de tratamiento con aminoglucósidos, de 1 semana de duración espaciados entre sí por un mes, o también un tratamiento usando estreptomicina cada dos semanas durante un período de 8 semanas (24).

Un estudio que combinó doxiciclina, enrofloxacin y estreptomicina demostró ser exitoso para el tratamiento de perros con uveítis (8, 24).

En una investigación se describió que, si bien el uso de enrofloxacin a dosis de 5 mg/kg cada 12 horas durante 4 semanas no erradicó la infección de un grupo de perros y perras que siguieron siendo positivos al hemocultivo, bastó para que se mantengan fértiles y no presentaran abortos (24, 8).

Droga	Dosis (mg/kg)	Ruta	Intervalo/duración
Doxiciclina o minociclina	5-10	PO	Cada 12 horas durante 4 semanas
Estreptomicina	5	IM o SC	Cada 24 horas en la semana 1 y 4
Gentamicina	5	PO	Cada 12 horas durante 4 semanas
Enrofloxacin	10	PO	Cada 24 horas durante 4 semanas
Rifampicina	5	PO	Cada 24 horas

Fármacos usados para el tratamiento de brucelosis canina. Se recomienda el uso combinado de uno más de estos. Sykes (2022) (23)

Ante resultados positivos, podemos valernos de un ensayo AGID cpa cada 2 a 6 meses o PCR para poder realizar un monitoreo de posibles recaídas y duración de un tratamiento (24). Si obtenemos 2 resultados negativos consecutivos, es sugestivo de una terapia adecuada. Este monitoreo debería ser indefinido, y en caso de darse una probable recaída, se debe realizar tratamiento (8).

Diagnósticos diferenciales

Dentro de los principales diagnósticos diferenciales encontramos infecciones por: herpesvirus, bartonellosis, mycobacteriosis, enfermedades que cursan con esplenomegalia (ehrlichiosis, babesiosis), enfermedades causantes de dolor, paresia y parálisis de miembros posteriores como enfermedades discales y discoespondilitis. Enfermedades que cursan con alteraciones oftálmicas como las infecciones rickettsiales, leptospirosis y toxoplasmosis (23).

Prevención

En lugar del tratamiento de esta enfermedad, el foco tiene que estar puesto en la prevención de la misma (27).

Como mencionamos previamente, los anticuerpos generados no protegen contra la infección en perros, sino que la principal respuesta que tiene el organismo es la inmunidad celular (23). A día de hoy, no existen vacunas comerciales efectivas para *B. canis* (21, 24). Además, estudios revelaron que aquellos perros vacunados experimentalmente generan anticuerpos que interfieren con el diagnóstico serológico de la enfermedad (24).

Dentro de las medidas preventivas, los criadores deberían realizar pruebas screening una o dos veces al año en sus establecimientos (21). Antes de introducir a un nuevo individuo al criadero, este debe ser testeado, puesto en cuarentena al menos 1 mes y ser introducido luego de haber dado 2 negativos a pruebas diagnósticas separadas entre sí por ese mes (24, 21). Sumado a esto, a la hora de elegir un individuo para sumar al establecimiento, los criadores deben corroborar que no tengan antecedentes conocidos de exposición a brucelosis canina (27).

En caso de tener positivos, luego de realizar una prueba de confirmación, lo ideal es la eliminación de ese individuo del criadero, y muchos autores recomiendan que sea aplicada la eutanasia. El resto debe permanecer en cuarentena y ser estudiados ante una posible infección (24).

Zoonosis

En el mundo, la brucelosis canina ha sido descrita como una amenaza para la salud pública (26). El conocimiento limitado que tenemos sobre la prevalencia actual de esta enfermedad, lo obtenemos de un puñado de información

proveniente de reportes de casos (13). Normalmente los humanos son resistentes a la infección por *Brucella canis*, aunque se han descrito casos de infección y se desconoce el número total de ellas (23).

En Argentina, la brucelosis canina es una enfermedad de notificación obligatoria. Aún así, los números reportados parecen no reflejar la realidad y se cree que la verdadera incidencia podría ser 10 a 25 veces más alta de lo notificado (14).

Algo que puede suceder, es que al sospechar de brucelosis en humanos, se utilicen métodos serológicos que no son capaces de detectar los anticuerpos de *B. canis*, aumentando así el número de casos no diagnosticados (24).

La brucelosis canina es considerada una enfermedad zoonótica ocupacional, por lo que es más frecuente la infección de trabajadores de tiendas de mascotas, criadores, laboratoristas, veterinarios y entrenadores de perros (20). Personas inmunocomprometidas, embarazadas y niños son los más susceptibles a desarrollar la enfermedad (23).

Establecer como obligatorias las pruebas diagnósticas a aquellos reproductores o crías provenientes de criaderos antes de que realicen un viaje interestatal o internacionales, disminuirían el riesgo de transmisión y potencial zoonosis (13).

Por otro lado, aquellos establecimientos como perreras o refugios de animales no tienen como protocolo realizar pruebas diagnósticas antes de dar en adopción perros, y esto representa un riesgo de transmisión zoonótica para los adoptantes (15). Esto es relevante, porque muchos de los perros que llegan a estos establecimientos son perros callejeros, quienes tienen una prevalencia mayor de esta enfermedad (10).

Es probable que por la baja incidencia aparente de la brucelosis canina, tanto la Organización Mundial de la Salud como la Organización Mundial de Sanidad Animal no tienen políticas relacionadas a esta enfermedad (13).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio es de tipo descriptivo transversal. El tipo de muestreo que utilizamos es de tipo no probabilístico por conveniencia. Hemos elegido obtener muestras de caninos hembras y machos sexualmente activos en dos criaderos de la ciudad de San Luis, teniendo en consideración la disponibilidad de recursos y la accesibilidad de los especímenes a estudiar.

Selección de Criaderos y población de estudio

En esta investigación obtuvimos muestras de dos criaderos de perros ubicados en la Ciudad de San Luis, Argentina. Como se señaló anteriormente, a estos los llamamos Criadero 1 y Criadero 2.

El muestreo se llevó a cabo solo en aquellos perros que eran usados para la reproducción, independientemente de su estado sanitario, edad y sexo. Del criadero 1 se estudiaron 25 perros, 16 hembras y 9 machos. Mientras que del criadero 2 obtuvimos 5 muestras, todas correspondientes a hembras.

En ambos criaderos se ha descrito al menos un signo compatible con brucelosis canina a lo largo de su funcionamiento. Sin embargo, ninguno fue diagnosticado de forma positiva y al momento de realizar este estudio no existían sospechas actuales debido a la ausencia de sintomatología o fallas reproductivas específicas.

Obtención, procesamiento y análisis de muestras

Se tomaron muestras de sangre mediante punción de la vena cefálica, utilizando una aguja 25/8 y una jeringa de 10 ml. Las mismas fueron almacenadas en tubos de muestra sin aditivos para posteriormente ser centrifugadas en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Católica de Cuyo.

Todas las muestras fueron recolectadas bajo protocolos de bioseguridad adecuados para prevenir la contaminación y garantizar la integridad de las mismas. Además, se realizó un examen físico de todos los perros que participaron de este estudio.

Posterior a la recolección y almacenamiento, los tubos colectores de sangre fueron llevados a la centrífuga, donde fueron centrifugados a 1800 RPM durante 10 minutos. Luego, usando una pipeta automática, se transfirió el suero a tubos Eppendorf y se almacenaron a -20°C hasta el momento de realizar la prueba ELISA.



Además de las muestras de sangre, se registró la información relevante de cada animal, incluyendo edad, sexo y raza; así como también información

acerca de los criaderos en fichas de datos como las que dejamos adjuntas en el **anexo 2 y 3**.

Prueba Serológica (ELISA)

Las muestras de suero fueron analizadas utilizando kits comerciales de ELISA específicos para *Brucella canis*, llamado kit VETLIS® Brucella iELISA Caninos, fabricados por Chemtest Argentina S.A.

Materiales y reactivos

El kit cuenta con lo siguientes materiales:

- Microplacas de 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) recubiertas con antígeno.
- Conjugado 10X IgG concentrado (anticuerpos anti-IgG canina conjugados con peroxidasa de rábano).
- Solución sustrato-cromógeno [3,3',5,5'-Tetrametilbencidina en solución de sustrato con peróxido de hidrógeno (H₂O₂)].
- Solución de frenado (lista para usar).
- Solución de lavado concentrado 10X.
- Diluyente de muestra (contiene Timerosal 0,01%).
- Controles positivo y negativo (sueros que contienen Timerosal 0,01%).



Elementos disponibles en el kit VETLIS® Brucella iELISA Caninos.

Materiales necesarios que no se suministran en el kit

- Pipeta multicanal y micropipetas (10,100,1000 μ L).
- Contenedores para pipeta multicanal.
- Puntas de pipeta descartables.
- Lector de microplacas (para medir absorbancia a 450 nm).
- Agitador orbital.
- Tubos para dilución de los controles y muestra.
- Agua destilada.
- Papel aluminio o film adhesivo para cubrir las placas.

A continuación desarrollaremos la descripción del procedimiento que indica el fabricante:

Procedimiento

1. Preparación de reactivos:

- o *Preparar la solución de lavado 1X:* para obtener 400 ml de solución de lavado 1X, debemos agregar 40 ml de solución de lavado 10X a 360 ml de agua destilada.
- o *Preparar del conjugado:* diluir 1/10 usando la solución de lavado 1X.

2. Preparación de los controles:

- o *Control positivo y negativo:* Agregar en tubos de 1,5 ml, 5µL de cada control a 495 µL de diluyente de muestra (1/100) y mezclar bien. Agregar 25 µL de la dilución anterior a 75 µL de diluyente de muestra previamente cargados en los pocillos correspondientes y mezclar bien.
- o *Blanco de muestra:* en cada placa debe agregar un blanco de muestra que está constituido por diluyente de muestra.

3. Preparación de muestras:

- o Las muestras de suero se deben diluir 1/400 usando el diluyente de muestra. Para lograr eso, se agrega a tubos de 1,5 ml 5 µL de suero en 495 µL de diluyente de muestra. Luego agregar 25 µL de la dilución anterior a 75 µL de diluyente de muestra previamente cargados en los pocillos correspondientes.
- o Las muestras de suero fueron recolectadas de los perros y almacenadas a -20°C hasta el momento del análisis.
- o Descongelar las muestras a temperatura ambiente y homogeneizarlas antes de su uso.

4. Ensayo ELISA:

- o **Paso 1:** Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
- o **Paso 2:** Procesar los controles (positivo, negativo y blanco de muestra)
- o **Paso 3:** Procesar las muestras de suero
- o **Paso 4:** Cubrir la placa e incubar a temperatura ambiente con agitación orbital durante una hora.
- o **Paso 5:** Lavar 5 veces con 200 a 300 µl de solución de lavado 1X por pocillo, asegurándose de retirar completamente el líquido después de cada lavado.
- o **Paso 6:** Agregar 100 µl de conjugado preparado a cada pocillo. Cubrir la placa e incubar a temperatura ambiente (20-25°C) con agitación orbital suave durante 1 hora.
- o **Paso 7:** Repetir el paso 5.
- o **Paso 8:** Agregar 100 µl de solución sustrato-cromógeno en cada pocillo e incubar con agitación orbital suave durante 10 minutos (± 1 minuto) a temperatura ambiente y en oscuridad (cubrir la placa con papel aluminio).
- o **Paso 9:** Detener la reacción agregando 100 µl de solución de frenado en cada pocillo y mezclar cuidadosamente aplicando ligeros golpes en los bordes de la placa.
- o **Paso 10:** Medir la absorbancia a 450 nm utilizando un espectrofotómetro de placas dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la solución de frenado.

Interpretación de resultados

La absorbancia medida a 450 nm se utilizó para determinar la presencia de anticuerpos anti-Brucella canis en las muestras de suero. Las muestras con absorbancias superiores a las del control negativo se consideraron positivas.

Principio de la técnica

El kit VETLIS® Brucella iELISA Caninos es un enzimoimmunoensayo indirecto diseñado para la detección de anticuerpos del isotipo IgG dirigidos contra el lipopolisacárido rugoso (LPSr) de Brucella canis. En esta prueba, las muestras de suero a estudiar se exponen a pocillos que están recubiertos con el antígeno (LPSr) de Brucella canis. Si la muestra contiene anticuerpos anti-LPSr, estos se van a unir al antígeno que está inmovilizado en el pocillo. Luego, al añadir el conjugado de peroxidasa de rábano, se forma un complejo con los anticuerpos anti-LPSr que están unidos al pocillo. El material no unido se elimina mediante lavados.. En las muestras que resultan positivas, al agregar sustrato-cromógeno se producirá una reacción con el conjugado, dando lugar a una coloración azul. La intensidad de este color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra que reaccionan con el antígeno. Entonces, cuanto más anticuerpos haya en la muestra, más intenso será el desarrollo del color en los pocillos de ensayo. La reacción se detiene mediante la adición de la solución de frenado, lo que provoca un cambio de color a amarillo. La lectura de los resultados se realiza en un espectrofotómetro de microplacas midiendo la absorbancia a 450 nm.

Expresión de los resultados

Los resultados se expresan como porcentaje de reactividad (PR) con respecto al control positivo (CP) incluido en cada ensayo. Los valores de absorbancia

medidos a 450 nm (Abs 450) de cada muestra se relacionan con el valor de Abs 450 del control positivo de la siguiente manera:

$$PR_{\text{Muestra}} = \left(\frac{\text{Abs450 Muestra*}}{\text{Promedio Abs450 CP}} \right) \times 100$$

Interpretación de los resultados

Los resultados de las muestras deben interpretarse de la siguiente manera:

- **Negativo:** $PR \leq 32\%$
- **Indeterminado:** $32\% < PR \leq 51\%$
- **Positivo:** $PR > 51\%$

En caso de obtener un resultado indeterminado, la prueba se debe repetir. Si el resultado es todavía indeterminado, se recomienda ensayar una segunda muestra del animal obtenida después de un período de, por lo menos, 3 semanas. Si con la nueva muestra se obtiene nuevamente un resultado indeterminado, debería contemplarse la situación epidemiológica y analizar la muestra con otra técnica si esto fuera posible.

El laboratorio proporciona una plantilla de excel donde volcar los resultados y realizar un análisis de los mismos. **Anexo 4**

7. RESULTADOS

Tras realizar la lectura de la absorbancia a 450 nm en el espectrofotómetro de placas, se obtuvieron los siguientes resultados.



Fecha: 23/8/2024

Analista: _____

Lote: _____

T (°C) / HR (%): _____

Test: VETLIS® Brucella iELISA Caninos

Versión: 15VL04_v22092022

Esquema de Siembra (91 muestras)

CN	M4	M12	M20	M28	M36	M44	M52	M60	M68	M76	M84
CN	M5	M13	M21	M29	M37	M45	M53	M61	M69	M77	M85
CP	M6	M14	M22	M30	M38	M46	M54	M62	M70	M78	M86
CP	M7	M15	M23	M31	M39	M47	M55	M63	M71	M79	M87
BM	M8	M16	M24	M32	M40	M48	M56	M64	M72	M80	M88
M1	M9	M17	M25	M33	M41	M49	M57	M65	M73	M81	M89
M2	M10	M18	M26	M34	M42	M50	M58	M66	M74	M82	M90
M3	M11	M19	M27	M35	M43	M51	M59	M67	M75	M83	M91

0,15	0,22	0,76	0,21	0,23							
0,20	0,40	0,36	0,12	0,10							
1,15	0,99	0,48	0,22	0,21							
0,96	0,53	0,79	0,20								
0,08	0,11	0,17	0,23								
0,34	0,23	0,35	0,40								
1,22	0,23	0,56	0,18								
0,25	0,25	0,28	0,21								

Posición	Protocolo	N° Tubo	Abs450	%PR	Interpretación
M1			0,34	32,6	INDETERMINADO
M2			1,22	115,7	POSITIVO
M3			0,25	23,4	NEGATIVO
M4			0,22	20,8	NEGATIVO
M5			0,40	38,0	INDETERMINADO
M6			0,99	94,2	POSITIVO
M7			0,53	50,6	INDETERMINADO
M8			0,11	10,2	NEGATIVO
M9			0,23	22,0	NEGATIVO
M10			0,23	21,7	NEGATIVO
M11			0,25	23,4	NEGATIVO
M12			0,76	72,3	POSITIVO
M13			0,36	33,8	INDETERMINADO
M14			0,48	45,8	INDETERMINADO
M15			0,79	74,6	POSITIVO
M16			0,17	15,9	NEGATIVO
M17			0,35	33,1	INDETERMINADO
M18			0,56	52,8	POSITIVO
M19			0,28	26,9	NEGATIVO
M20			0,21	20,3	NEGATIVO
M21			0,12	11,0	NEGATIVO
M22			0,22	20,4	NEGATIVO
M23			0,20	19,3	NEGATIVO
M24			0,23	21,6	NEGATIVO
M25			0,40	37,5	INDETERMINADO
M26			0,18	17,2	NEGATIVO
M27			0,21	19,6	NEGATIVO
M28			0,23	22,0	NEGATIVO
M29			0,10	9,6	NEGATIVO
M30			0,21	19,6	NEGATIVO

De las 30 muestras obtenidas, 5 resultaron positivas, 18 negativas y 7 con resultado indeterminado.

Resultados	Número
Positivos	5
Negativos	18
Indeterminado	7
Total	30

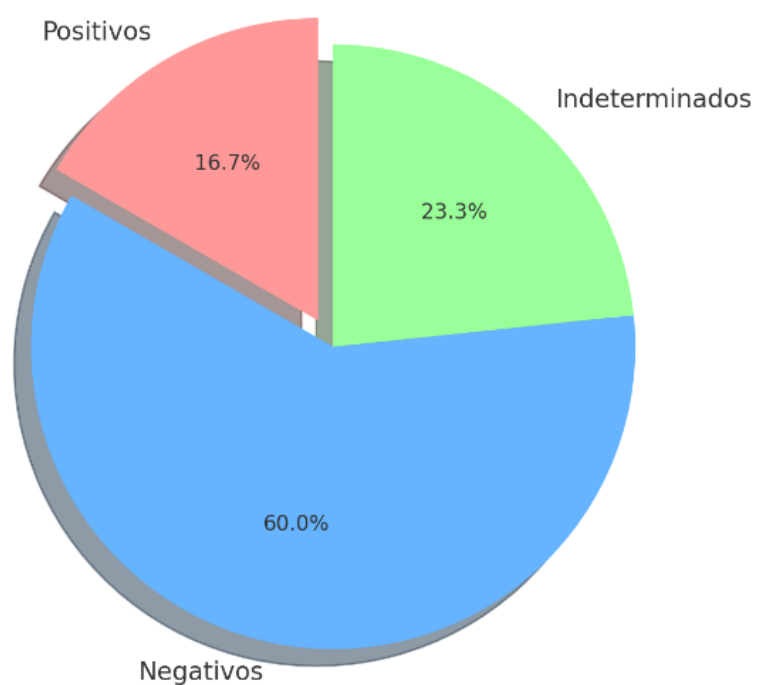


Gráfico de torta de los resultados totales.

En cuanto a la diferencia entre criaderos, del Criadero 1 obtuvimos 5 positivos, 7 indeterminados y 13 negativos; mientras que en el Criadero 2 obtuvimos 5 negativos.

Criadero	Positivos	Negativos	Indeterminados	Total
Criadero 1	5	13	7	25
Criadero 2	0	5	0	5
Total	5	18	7	30

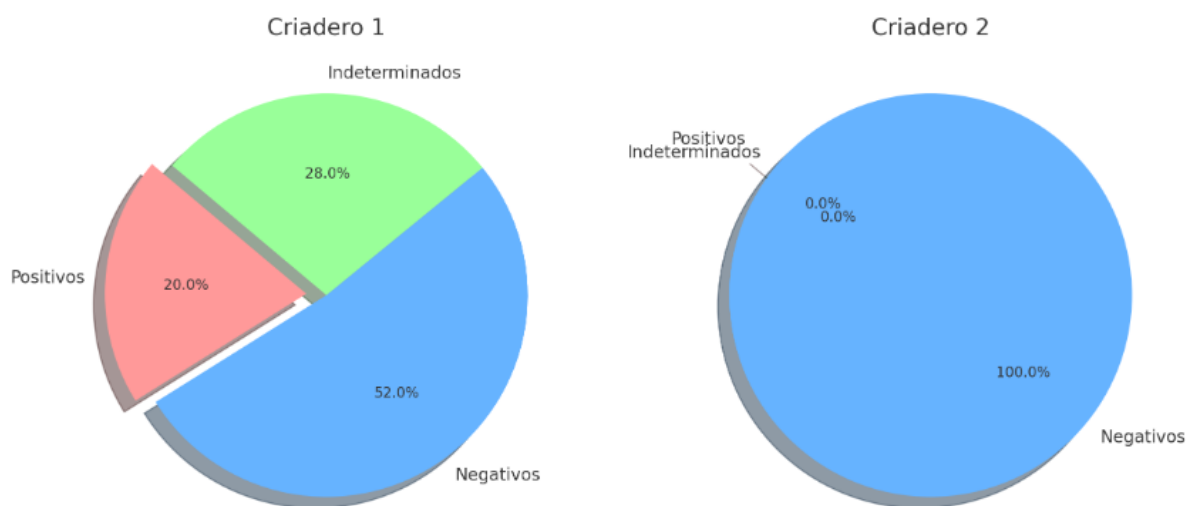


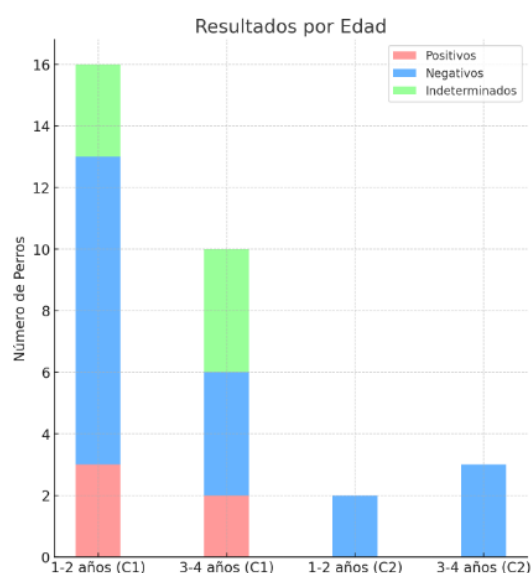
Gráfico de torta sobre la comparación entre criaderos.

Con respecto a la prevalencia, en el Criadero 1 tenemos una del 20%, mientras que en la del Criadero 2 es del 0%.

	Total de muestras	Positivos	Prevalencia (%)
Criadero 1	25	5	20%
Criadero 2	5	0	0.0%
Total	30	5	16.7%

Comparando los resultados en cuanto a la edad de los perros muestreados:

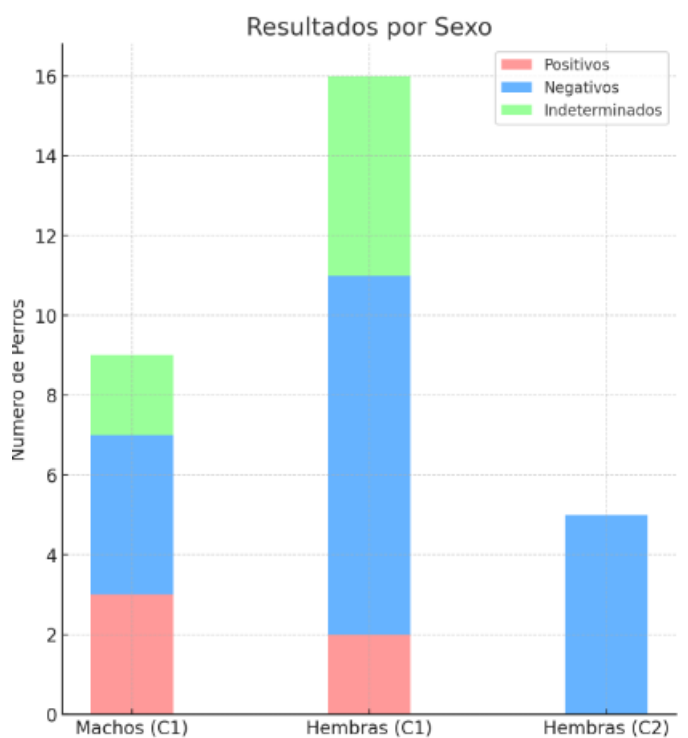
Criadero	Edad	Total de perros	Positivos	Negativos	Indeterminados
Criadero 1	1-2 años	16	3	11	3
	≥3 años	9	2	4	4
Criadero 2	1-2 años	2	0	2	0
	≥3 años	3	0	3	0



Distribución de resultados serológicos según edad.

Los resultados teniendo en cuenta el sexo de los perros muestreados:

Criadero	Sexo	Total de perros	Positivos	Negativos	Indeterminados
Criadero 1	Machos	9	3	4	2
	Hembras	16	2	9	5
Criadero 2	Hembras	5	0	5	0
	Machos	0	0	0	0



Distribución de resultados serológicos según el sexo.

8. CONCLUSIONES

Luego de realizar el serodiagnóstico con ELISA, se demostró la presencia de anticuerpos contra *B. canis* en criaderos de la ciudad de San Luis, Argentina.

Comparando ambos criaderos, se observó una seropositividad del 20% en el criadero 1, mientras que en el criadero 2 no hubo casos seropositivos. Dentro de los positivos, el 60% tienen 2 años o menos de edad. Y con respecto al sexo, 40% de los positivos son hembras.

Aquellos individuos que dieron resultado indeterminado, se recomienda volver a repetir una prueba de ELISA. Si vuelve a dar indeterminado, se recomienda esperar al menos 3 semanas antes de volver a realizarla. En caso de volver a obtener el mismo resultado, debemos considerar recurrir a otra prueba diagnóstica de confirmación.

Aquellos perros seropositivos, deben ser eliminados del criadero. Las medidas que se tomarán luego con ellos dependerán de la decisión que tomen los criadores, luego de ser asesorados por profesionales veterinarios. Es recomendable volver a tomar muestras de aquellos individuos que dieron negativos de forma regular, a modo de vigilancia.

Aquellos trabajadores y personas con contacto estrecho al criadero 1, deberían ser testeados ante una potencial infección por *Brucella canis*.

Considerando su potencial zoonótico y el desconocimiento epidemiológico que tenemos sobre ella, la brucelosis canina representa un riesgo para la salud pública. A pesar de haber constantes avances en el desarrollo de métodos

diagnósticos, tratamientos y vacunas, es imperioso centrarnos en la difusión sobre los métodos preventivos de esta enfermedad. Combinar vigilancia epidemiológica, divulgación y creación de nuevas medidas de control, son el norte al que debemos apuntar.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Ardoino SM, Baruta DA, Toso RE. Brucelosis canina. *Ciencia Veterinaria*. 2006 Jan 10;8(1515-1883).
2. Baruta D, Ardoino S, Riesco, Marengo. *Ciencia Veterinaria*. Facultad de Ciencias Veterinarias. 2000 [citado 2024 Aug 25].
3. Boeri E, Escobar GI, Ayala SM, Sosa-Estani S, Lucero NE. Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)*. 2008;68(4):291–7.
4. Borie C, Galarce N. *Brucella canis*. *Revista chilena de infectología*. 2015 Apr;32(2):219–20.
5. Carmichael LE. Contagious abortion in beagles, Hounds and Hunting. *J Am Vet Med Assoc*. 1967;152:605:616.
6. Carmichael LE, Zoha SJ, R Flores-Castro. Problems in the serodiagnosis of canine brucellosis: dog responses to cell wall and internal antigens of *Brucella canis*. *PubMed*. 1984 Jan 1;56:371–83.
7. Castrillón-Salazar LL, Giraldo-Echeverri CA, Miryan Margot Sánchez-Jiménez, Olivera-Angel M. Factores asociados con la seropositividad a *Brucella canis* en criaderos caninos de dos regiones de Antioquia, Colombia. *Cadernos De Saude Publica*. 2013 Oct 1;29(10):1975–87.
8. Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne* [Internet]. 2018 Jan 1;59(1):74–81.

9. Cortina ME, Novak A, Melli LJ, Elena S, Corbera N, Romero JE, et al. Development of improved enzyme-based and lateral flow immunoassays for rapid and accurate serodiagnosis of canine brucellosis. *Veterinary Microbiology*. 2017 Sep;208:174–80.
10. De Massis F, Sacchini F, Petrini A, Bellucci F, Perilli M, Garofolo G, et al. Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures. *Veterinaria Italiana*. 2022 Nov 17;58(1):5–23.
11. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of veterinary internal medicine : diseases of the dog and cat*. St. Louis: Elsevier Saunders; 2017.
12. Feldman EC. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. St. Louis: Elsevier; 2015.
13. Hensel ME, Negron M, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis in Dogs and Public Health Risk. *Emerging Infectious Diseases*. 2018 Aug;24(8):1401–6.
14. Juan E, Romero M, Leonardo D, Mauro B, Wydler. Brucelosis en caninos: Una zoonosis subestimada. *Difusión y Capacitación Técnica Protenencia*
15. Kauffman LK, Petersen CA. Canine Brucellosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2019 Jul;49(4):763–79.
16. López G, N. A serological and bacteriological survey of dogs to detect *Brucella* infection in Lomas de Zamora, Buenos Aires province. *Revista argentina de microbiología*. 2024
17. Moncá I. RESULTADOS DE SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN ESQUEL. 1st ed. *Jornada Patagónica : Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico*. Asoc. Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico; 2022.
18. Myers DM, Varela Díaz VM. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of stray dogs in Moreno, Argentina. *Cornell Vet* . 1980 Feb 6;70:258–65.

19. Pereira CR, Cotrim de Almeida JVF, Cardoso de Oliveira IR, Faria de Oliveira L, Pereira LJ, Zangerônimo MG, et al. Occupational exposure to *Brucella* spp.: A systematic review and meta-analysis. Lin T, editor. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2020 May 11;14(5):e0008164.
20. Prochazka MA, Bonzo E, Miceli G. SEROPREVALENCIA DE BRUCELLA CANIS MEDIANTE LA TÉCNICA DE RSAT EN EL MUNICIPIO DE BAHIA BLANCA, PROV. DE BUENOS AIRES. [cited 2024 Aug 25].
21. Santos RL, Souza TD, Mol JPS, Eckstein C, Paixão TA. Canine Brucellosis: An Update. Frontiers in Veterinary Science. 2021 Mar 2;8.
22. Stranahan LW, Arenas-Gamboa AM. When the Going Gets Rough: The Significance of *Brucella* Lipopolysaccharide Phenotype in Host–Pathogen Interactions. Frontiers in Microbiology. 2021 Jul 15;12.
23. Sykes JE. Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat - E-Book. Elsevier Health Sciences; 2022.
24. Sykes JE. Canine and feline infectious diseases. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders; 2014.
25. VETLIS® *Brucella* iELIS A Caninos [Internet]. [cited 2024 Aug 25]. Available from: <https://www.chemtest.net/docs/vetlis-caninos-manual.pdf>
26. Vitomir Djokić, Luca Freddi, Fabrizio De Massis, Lahti E, Marielle, Whatmore AM, et al. The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know, and what we need to learn. Emerging microbes & infections. 2023 Aug 31;12(2).
27. Wanke MM. Canine brucellosis. Animal Reproduction Science. 2004 Jul;82-83:195–207.

10. ANEXOS

Anexo 1. Recopilación de evaluación serológica. Hensel et col 2018.

Brucellosis in Dogs and Public Health Risk

Location	Sample Population	Prevalence	Test	Year	Reference
Florida, USA	Shelter	3.65	RSAT	1974	Hoff GL, Nichols JB. Canine brucellosis in Florida: serologic survey of pound dogs, animal shelter workers and veterinarians. <i>Am J Ep.</i> 1974; Jul;100(1):35-9.
Hokkaido, Japan	Pat	3	RSAT	1974-1975	Kiuchi YK, Sakuma YS, Sato T, Suzuki S, Hoshi S, Sato K, et al. Survey of <i>Brucella canis</i> infection in dogs kept at the Tohoku University School of Medicine. [Japanese] <i>Jikken Dobutsu</i> . 1979 28(2):279-86.
Nashville, Tennessee, USA	Pat	1.9	2ME-SAT	1974	Fredrickson LE, Barton CE. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1974 Dec 01;165(11):987-9.
Nashville, Tennessee, USA	Stray	6.6	2ME-SAT	1974	Fredrickson LE, Barton CE. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1974 Dec 01;165(11):987-9.
Japan, Tokyo	Pat	3.6	RSAT	1974	Kiuchi YK, Sakuma YS, Sato T, Suzuki S, Hoshi S, Sato K, et al. Survey of <i>Brucella canis</i> infection in dogs kept at the Tohoku University School of Medicine. [Japanese] <i>Jikken Dobutsu</i> . 1979 28(2):279-86.
Tokyo, Japan	Pat	2.9	RSAT	1974-1975	Kiuchi YK, Sakuma YS, Sato T, Suzuki S, Hoshi S, Sato K, et al. Survey of <i>Brucella canis</i> infection in dogs kept at the Tohoku University School of Medicine. [Japanese] <i>Jikken Dobutsu</i> . 1979 28(2):279-86.
Antioquia, Colombia	Pat	15	2ME-RSAT	1975	Casation-Salazar L, Gralao-Echeverri CA, Sanchez-Jimenez MM, Olvera-Angel M. Factors associated with <i>Brucella canis</i> seropositivity in kennels of two regions of Antioquia, Colombia. [Spanish] <i>Cad Saude Publica</i> 2013 29(10):1975-97.
Columbus, Mississippi, USA	Pat	0	TAT	1977	Galphin SP. A serologic survey for <i>Brucella canis</i> in dogs on a military base. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1977 171(8):728-9.
Columbus, Mississippi, USA	Stray	7.6	TAT	1977	Galphin SP. A serologic survey for <i>Brucella canis</i> in dogs on a military base. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1977 171(8):728-9.
Mexico City, Mexico	Stray	28	TAT	1976	Flores-Castro R, Segura R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. <i>The Cornell Vet</i> . 1976 Jul;66(3):347-52.
Athens and Georgia, USA	Stray	9	RPAT, TAT	1976	Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW. <i>Brucella canis</i> infectivity rates in stray and pet dog populations. <i>Am J Public Health</i> . 1976 Sep;66(9):889-91.
Athens and Georgia, USA	Pat	1	RPAT, TAT	1976	Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW. <i>Brucella canis</i> infectivity rates in stray and pet dog populations. <i>Am J Public Health</i> . 1976 Sep;66(9):889-91.
Athens and Georgia, USA	Stray	8	SAT	1976	Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW, Carmichael LE. A serologic survey of a population of Georgia dogs for <i>Brucella canis</i> and an evaluation of the slide agglutination test. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1976 Dec 1;169(11):1214-6.
Athens and Georgia, USA	Pat	1	SAT	1976	Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW, Carmichael LE. A serologic survey of a population of Georgia dogs for <i>Brucella canis</i> and an evaluation of the slide agglutination test. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1976 Dec 1;169(11):1214-6.
Memphis, Tennessee, USA	Stray	10.1	RSAT	1976	Loeppky GS, Caver H, Moseley I, Hicks M. Serosurvey of dogs for <i>Brucella canis</i> infection in Memphis, Tennessee. <i>Am J Public Health</i> . 1976;66(2):175-6.
Memphis, Tennessee, USA	Pat	0	RSAT	1976	Loeppky GS, Caver H, Moseley I, Hicks M. Serosurvey of dogs for <i>Brucella canis</i> infection in Memphis, Tennessee. <i>Am J Public Health</i> . 1976;66(2):175-6.
Georgia, USA	Stray, urban	9	SAT	1977	Wooley RE, Brown J, Shotts EB Jr., Blue JL, Dreesen DW. Serosurvey of <i>Brucella canis</i> antibodies in urban and rural stray dogs in Georgia. <i>Vet Med, Sm Anim Clin</i> . 1977 Oct;72(10):1581-4.
Georgia, USA	Stray, rural	3	SAT	1977	Wooley RE, Brown J, Shotts EB Jr., Blue JL, Dreesen DW. Serosurvey of <i>Brucella canis</i> antibodies in urban and rural stray dogs in Georgia. <i>Vet Med, Sm Anim Clin</i> . 1977 Oct;72(10):1581-4.
Mexico City, Mexico	Stray	11	SAT	1977	Flores-Castro R, Segura R, Jimenez-Camacho C, Carmichael LE. Canine brucellosis: bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs. <i>Am J Vet Res</i> . 1977 Dec;38(12):1501-1504.
Tohoku, Japan	Pat	11.2	RSAT	1977	Kiuchi YK, Sakuma YS, Sato T, Suzuki S, Hoshi S, Sato K, et al. Survey of <i>Brucella canis</i> infection in dogs kept at the Tohoku University School of Medicine. [Japanese] <i>Jikken Dobutsu</i> . 1979 28(2):279-86.
Shiga, Japan	Pat	2.5-3.5	SAT	1976-1977	Kiuchi YK, Sakuma YS, Sato T, Suzuki S, Hoshi S, Sato K, et al. Survey of <i>Brucella canis</i> infection in dogs kept at the Tohoku University School of Medicine. [Japanese] <i>Jikken Dobutsu</i> . 1979 28(2):279-86.
Tokyo, Japan	Stray and Kennel	2.9	TAT, culture	1978	Saegusa J, Ieda K, Goto Y, Fujiwara K. A survey of <i>Brucella canis</i> agglutinins to <i>Brucella canis</i> in dogs of the Kyushu district. [Japanese] <i>Jpn J Vet Sci</i> . 1979 41(3):339-41.
Kyushu, Japan	Shelter and Pat	1.6	SAT	1977-1978	Saegusa J, Ieda K, Goto Y, Fujiwara K. A survey of <i>Brucella canis</i> agglutinins to <i>Brucella canis</i> in dogs of the Kyushu district. [Japanese] <i>Jpn J Vet Sci</i> . 1979 41(3):339-41.
Basilicata, Italy	n/a	12	SAT	1978-1979	Colletti G, Corsolini T, Goffredo G. Serological studies on brucellosis in dogs in Puglia and Basilicata, Italy. [Italian] <i>Atti del Congresso Nazionale Società Italiana delle Scienze Veterinarie</i> . 1981.
Illinois and Wisconsin, USA	Stray	1.5	ME-RSAT	1979	Boebel FW, Elmerford FA, Brown GM, Angus RD, Thoen CO. Agglutinins to <i>Brucella canis</i> in stray dogs from certain counties in Illinois and Wisconsin. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1979 Aug 1;175(3):276-7.
Quebec, Canada	Pat	1.6	ME-RSAT	1979	Higgins R, Hoquet F, Bourque R, Gosselin Y. A serological survey for <i>Brucella canis</i> in dogs in the Province of Quebec. <i>Can Vet J</i> . 1979 20(11):315-7.
Manila, Philippines	Pat and Stray	28	TAT	1979	Laudencia RL, Rovira HG. A serologic survey of <i>Brucella canis</i> agglutinins in various dog populations in Metro Manila. <i>Philippine J Vet Med</i> . 1979 18(1):1-10.
Taiwan	n/a	11	Culture SAT	1979-1980	Tsai CS, UYS, Iatayana Y, Sazabara J. Serological survey for <i>Brucella canis</i> infection in dogs in Taiwan and the isolation and identification of Br. <i>Taiwan J Vet Med Anim Husband</i> . 1983;9.
Michigan, USA	Stray	5.7-8.6	TAT	1980	Thermann AB. Brucellosis in stray dogs in Detroit. <i>J Am Vet Med Assoc</i> . 1980 177(12):1216-7.
Valdivia, Chile	Pat	16.7	SAT	1980	Zamora J, Alonso O, Martin R. <i>Brucella canis</i> in Valdivia, Chile. Serological and bacteriological studies on town dogs. [Spanish] <i>Zentralblatt fur Veterinarmedizin</i> . 1980 27(2):145-53.
Ontario, Canada	Pat	0.3	RSAT TAT	1980	Bosu WT, Prescott JF. A serological survey of dogs for <i>Brucella canis</i> in southwestern Ontario. <i>Can Vet J</i> . 1980 Jul;21(7):198-200.

(Continúa en página 55)

Southern Germany	Pet	0.6	TAT MET	1980	Wintermantel A. Seroprevalence of <i>Brucella canis</i> infection in dogs and human beings in southern Germany. 1980
Glasgow, Britain	Pet and Breeding Kennel	1.1	SAT	1980	Taylor DJ. Serological evidence for the presence of <i>Brucella canis</i> infection in dogs in Britain. Vet Rec. 1980 Feb 2;106(5):102-4.
Moreno, Argentina	Stray	30.5	CIE ME-TAT	1980	Myers DM, Varela Diaz VM. Serological and bacteriological detection of <i>Brucella canis</i> infection of stray dogs in Moreno, Argentina. Cornell Vet. 1980 70(3):258-65.
Sao Paulo, Brazil		9.1 and 2.4	PAT TAT	1981	Larsson MH, da Costa EO. Isolation of <i>Brucella canis</i> . Int J Zoonoses. 1980 7(2):125-30.
Ankara, Turkey	Stray	12	2ME	1983	Istanbulluoglu E, Diker S. Serological studies on <i>Brucella canis</i> . [Turkish] Veteriner Fakultesi Dergisi Ankara Universitesi. 1983 30(1):14-8.
Ankara, Turkey	Pet	3.5	2ME	1983	Istanbulluoglu E, Diker S. Serological studies on <i>Brucella canis</i> . [Turkish] Veteriner Fakultesi Dergisi Ankara Universitesi. 1983 30(1):14-8.
Illinois, USA	Pet	0-12	RSAT, 2ME-TAT	1984	Ghoniem NH, Woods GT. Serological epidemiology of <i>Brucella canis</i> in a hospitalized and referral population of dogs and cats in Illinois. Canine Practice. 1984 11(1):17-27.
Turkey	Pet	4.5	2ME	1987	Diker KS, Aydin N, Erdogir J, Ozyurt M. A serologic survey of dogs for <i>Brucella canis</i> and <i>Brucella abortus</i> and evaluation of mercaptoethanol microagglutination test. [Turkish] Veteriner Fakultesi Dergisi Ankara Universitesi. 1987 34(2):268-76.
Turkey, pet population	Pet	15.6	2ME	1987	Diker KS, Aydin N, Erdogir J, Ozyurt M. A serologic survey of dogs for <i>Brucella canis</i> and <i>Brucella abortus</i> and evaluation of mercaptoethanol microagglutination test. [Turkish] Veteriner Fakultesi Dergisi Ankara Universitesi. 1987 34(2):268-76.
Campinas, Brazil	Stray	5.4	2ME-RSAT	1987	Germano PML, Vasconcelos SA, Ishizuka MM, Passos EC, Erolato EB. Prevalence of <i>Brucella canis</i> infections in dogs of the city of Campinas, SP, Brazil. [Portuguese] Revista da Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia da Universidade de Sao Paulo. 1987 24(1):27-34.
Aomori, Japan	Pet	1.9		1991	Isayama Y. Canine brucellosis. [Japanese] J Vet Med, Jpn. 1994;47(2):97-101.
Madras, India	Pet	1.96	2ME-TAT	1992	Srinivasan VK, Nedunchellayan S, Venkataraman KS. Prevalence of canine brucellosis in urban and rural areas of Tamilnadu. Indian J Vet Med. 1992 12(1):39.
Coimbatore, Madurai, and Tenkasi, India	Stray	5.75	2ME-TAT	1992	Srinivasan VK, Nedunchellayan S, Venkataraman KS. Prevalence of canine brucellosis in urban and rural areas of Tamilnadu. Indian J Vet Med. 1992 12(1):39.
Catalan, Spain	Stray	15.23	RSAT	1993	Mateau de Antonio EM, Martin Castillo M. Seroprevalence studies of <i>Brucella canis</i> and smooth brucellae in dogs. [Spanish] Medicina Veterinaria. 1993 10(4):241-3.
Catalan, Spain	Pet	4.63	RSAT	1993	Mateau de Antonio EM, Martin Castillo M. Seroprevalence studies of <i>Brucella canis</i> and smooth brucellae in dogs. [Spanish] Medicina Veterinaria. 1993 10(4):241-3.
Hunan Province, China	n/a	20.97	Serology	1996	Dao Xin L, Jun Zheng Q, Guo Hua D, Feng Mei R, Shi L. A survey of dog diseases in Hunan Province. I. Serological investigation of six zoonoses. [Mandarin] Chinese J Vet Med. 1996 22(2):53-4.
Monte Gordo, Bahia, Brazil	Stray	37	AGID	1997	Melo SMB, Aguiar PHP, Nascimento RM, Friere SM. Serological evaluation of the agar gel immunodiffusion (AGID) test for the diagnosis of <i>Brucella canis</i> infection in dogs in the Monte Gordo district - Camacan - Bahia. [Portuguese] Arquivos da Escola de Medicina Veterinaria da Universidade Federal da Bahia. 1997 19(1):119-27.
Catalogne, Spain	Pet and Stray	4.5	AGID	1998	Mateu de Antonio EM, Delgado S, Martin M, Casal J, Carmones P. <i>Brucella</i> infections in Spanish dogs. [French] Recueil de Medecine Veterinaire. 1998 174(1):6-10.
Castellon/Leon, Spain	Pet and Stray	4.5	AGID	1998	Mateu de Antonio EM, Delgado S, Martin M, Casal J, Carmones P. <i>Brucella</i> infections in Spanish dogs. [French] Recueil de Medecine Veterinaire. 1998 174(1):6-10.
Taegu, Korea	Breeding kennel	42.1	Culture, TAT	1999-2000	Cheongkyu P, Oh J. Bacteriological and serological investigation of <i>Brucella canis</i> infection of dogs in Taegu city, Korea. [Korean] Korean J Vet Research. 2001 41(1):67-71.
Taegu, Korea	Pet	4.8	Culture, TAT	1999-2000	Cheongkyu P, Oh J. Bacteriological and serological investigation of <i>Brucella canis</i> infection of dogs in Taegu city, Korea. [Korean] Korean J Vet Research. 2001 41(1):67-71.
La Pampa, Argentina	Random	7	AGID	2001	Baruta DA, Ardono SM, Riesco SR, Marengo ML, Brandan JL, Oriani DS. Prevalence of specific and non-specific antibodies against <i>Brucella</i> in dogs in the city of General Pico, La Pampa, Argentina. [Spanish] Selecciones Veterinarias. 2001 9(4):415-8.
Rio de Janeiro, Brazil	Stray	9.2	AGID	2002	Moraes MA, Laranja HF, Vieira DK, Lopes SP, Frezza A, Melo G, et al. Identification of dogs potentially transmitters of <i>Brucella</i> in west zone of Rio de Janeiro City. [Portuguese] Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria. 2002 9(3):154-7.
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil	Random	4.8	AGID	2002	Souza LA, Viana RCA, Michalick MSM, Reis JKP4, Lage AP. Prevalence of <i>Brucella canis</i> infection in Belo Horizonte - MG. [Portuguese] Revista Brasileira de Medicina Veterinaria. 2002 24(3):127-31.
Botucatu, Sao Paulo State, Brazil	Pet	1.77, 0.84	RSAT, ME-RSAT	2002	Moraes CCG, Megid J, Souza LC, Croci AJ. Canine brucellosis prevalence at the microregion of the Botucatu mountain range, Sao Paulo State, Brazil. [Portuguese] Arquivos do Instituto Biologico (Sao Paulo). 2002 69(2):7-10.
Sao Joao da Boa Vista, State of Sao Paulo, Brazil	Stray	0.8	AGID	2002-2003	Reis CBMD, Hoffmann RC, Santos RGS, Tuni RdJG, Oriani MRAG. Research of antibodies anti- <i>Brucella canis</i> and anti- <i>Brucella abortus</i> in wandering dogs in Sao Joao da Boa Vista, State of Sao Paulo, Brazil. [Portuguese] Brazilian J Vet Res Anim Sci. 2008 45(1):32-4.
Rio de Janeiro, Brazil	Random	7.4	AGID	2003	Marassi CD, Moraes Md, Lilenbaum W. Serodiagnosis of canine brucellosis in Rio de Janeiro by gel-agarose immunodiffusion method. [Portuguese] Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria. 2003 10(1):63-4.
Santana de Parnaiba, Sao Paulo, Brazil	Pet	2.2	AGID, CFT	2003-2004	Azevedo SS, Vasconcelos SA, Alves CJ, Keid LB, Grasso LMPS, Mascoll R, et al. Serological survey and risk factors for brucellosis due to <i>Brucella canis</i> in dogs in Santana de Parnaiba municipality, State of Sao Paulo. [Portuguese] Pesquisa Veterinaria Brasileira. 2003 23(4):156-60.
Alfense, Minas Gerais, Brazil	Pet	14.2	AGID	2004	Almeida AC, Santorrelli A, Brucadelli RMZ, Oliveira MMNF. Seroprevalence of canine brucellosis caused by <i>Brucella canis</i> and <i>Brucella abortus</i> in Alfense, MG, Brazil. [Portuguese] Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia. 2004 56(2):275-6.
Van, Turkey	Stray	36.72	TAT	2004	Solmaz H, Tutuncu M, Akkan HA, Boyunkara B, Alsakal A. Seroprevalence of brucellosis in stray dogs in the region of Van, Turkey. Indian Vet J. 2004 81(10):1085-8.
Wisconsin, USA	Breeding kennel	26.8	RSAT, ME-RSAT	2005	Brower A, Okunmbua O, Massengill C, Muenks G, Vanderlo P, Duster M, et al. Investigation of the spread of <i>Brucella canis</i> via the U.S. interstate dog trade. Int J Infect Dis. 2007 11(5):454-8.
Istanbul, Turkey	Shelter	7.45	ELISA	2005	Oncel T, Akan M, Sareyuyoglu B, Tel OY, Ciftci A. Seroprevalence of <i>Brucella canis</i> infection of dogs in two provinces in Turkey. [Turkish] Turk Veterinerlik ve Hayvancilik Dergisi. 2005 29(3):779-83.
Izmir, Turkey	Shelter	15.78	ELISA	2005	Oncel T, Akan M, Sareyuyoglu B, Tel OY, Ciftci A. Seroprevalence of <i>Brucella canis</i> infection of dogs in two provinces in Turkey. [Turkish] Turk Veterinerlik ve Hayvancilik Dergisi. 2005 29(3):779-83.
Rondonia, Brazil	Stray	3.6	AGID	2005	Aguiar DMd, Cavalcante GT, Vasconcelos SA, Megid J, Salgado VR, Cruz TF, et al. Anti- <i>Brucella abortus</i> and anti- <i>Brucella canis</i> antibodies occurrence in rural and urban dogs from Monte Negro county, Rondonia, Brazil. [Portuguese] Ciencia Rural. 2005 35(6):1216-9.
Belgrade, Yugoslavia	Stray	10.87		2006	Radojicic S, Cierdzic M, Dimic B, Kircanski J. Investigations of prevalence of antibodies to <i>B. canis</i> in stray dogs in territory of Belgrade. [Serbian] Veterinarski Glasnik. 2006 60(1):43-9.

(Continúa en página 56)

Klang Valley, Malaysia	n/a	4.88	ME-TAT	2006	Khairani-Bejo SA, Bahaman AR. Investigation of canine brucellosis in Klang Valley Malaysia. J Anim Vet Adv. 2006;5(1):42-4.
Tokyo, Japan	Pet	8.3	MAT	2007-2013	Mizutani H, Kubota N, Saito Y, Matsumura A, Yamamoto T, Kimura M, et al. Prevalence of anti-Brucella canis antibodies among dogs in Tokyo. [Japanese] J Jpn Vet Med Assoc. 2014;67(3):204-7.
Seropedita, Rio de Janeiro, Brazil	Pet	52.8	AGID	2008	Alves AdL, Botteon RACM, Brito SdM, Botteon PdT, Jesus VLT. Occurrence of canine brucellosis in Seropedita municipality - Rio de Janeiro. [Portuguese] Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 2008;30(3):152-6.
Maceio, Alagoas, Brazil	Pet	4.4	AGID	2008	Porto WJN, Pinheiro Junior JW, Mota RA. Agglutinin against Brucella canis and Brucella abortus and risk factors for Brucella canis infected dogs examined in private veterinary clinics in the city of Maceio-Alagoas. [Portuguese] Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 2008;15(1):6-9.
Buenos Aires, Argentina	Pet	7.3	RSAT	2008	Boeri E, Escobar GI, Ayala SM, Sosa-Estani S, Lucero NE. Canine brucellosis in dogs in the city of Buenos Aires. [Spanish] Medicina (Buenos Aires). 2008;68(4):291-7.
India	Pet	4.3	ELISA	2008	Mathur VC, Sinha DK, Choudhury P, Shankar H, Srinastava SK. Evaluation and comparison of recombinant Omp 28 antigen in indirect ELISA for sero-prevalence study of canine brucellosis. Indian J Anim Sci. 2008; 78(4):357-9.
Kanawaga, Japan	Pet	2.5	MAT	2008	Kimura M, Imada K, Suzuki M, Kamiyama T, Yamada A. Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. J Vet Med Sci. 2008;70(7):707-9.
Campina Grande, Paraíba, Brazil	Random	2.35	AGID	2008	Vasconcelos RTD, Alves CJ, Jose CJ, Araújo Neto JO, Alves FdAL, Batista CqSA, et al. Seroprevalence and risk factors associated to "Brucella canis" infection in dogs from Campina Grande, Paraíba. [Portuguese] Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 2008;9(3):436-42.
Meia, Colombia	Pet and stray	1.49	RPAT	2009	Pardo AD, Perez CA, Góngora AO, Gómez LL, Moreno AV. Exploratory survey of Brucella canis infection in dogs from Villavicencio-Colombia. [Spanish] Revista MVZ Córdoba. 2009;14(2):1690-6.
Buenos Aires Province, Argentina	Shelter	10.7-14.7	RSAT, ELISA	2009	Lopez G, Ayala SM, Efron AM, Gomez CF, Lucero NE. A serological and bacteriological survey of dogs to detect Brucella infection in Lomas de Zamora, Buenos Aires province. [Spanish] Revista Argentina de microbiología. 2009;41(2):97-101.
Ahvaz, Iran	Pet	4.9	ICT	2009	Mosallanejad B, Najafabadi MG, Mohammadian N. A serological survey on Brucella canis in companion dogs in Ahvaz. [Arabic] Iranian J Vet Res. 2009; 10(4):383-6, 401-2.
Finland	Breeding kennel	0	TAT, 2ME-TAT	2011	Dahlbom M, Johansson M, Myllys V, Taponen J, Andersson M. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and Brucella canis in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. Reprod Domest Anim. 2009;44(1):128-31.
Konya, Turkey	Shelter	21.5	ELISA	2010	Ucan US, Aras Z, Zorlutuna M. Detection of canine brucellosis by a rapid agglutination test using Rhizobium tropici as antigen. [French] Revue de Médecine Veterinaire. 2010; 16(12):51-6.
Uberlandia, Brazil	n/a	0	AGID	2010	Salaberry SRS, Ribeiro VC, Dasso MG, Castro JRD, Silva HO, Souza MAD, et al. Occurrence of Brucella canis and Brucella abortus antibodies in dogs from Uberlandia, MG, Brazil. [Portuguese] Acta Veterinaria Brasileira. 2010;44(4):280-282.
Medellin, Colombia	Stray	6.78	RSAT	2010	Ruiz BD, Gratiot JE, Lopez LV, Chica JF. Brucella canis seroprevalence in stray dogs from centro de bienestar animal "La Pelfa", Medellín (Colombia). 2008. [Spanish] Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2010;23(2):166-72.
Bangladesh	Stray	6.67	SAT	2011	Talukder BC, Samad MA, Rahman AKMA. Comparative evaluation of commercial serodiagnostic tests for the seroprevalence study of brucellosis in stray dogs in Bangladesh. Bangladesh J Vet Med. 2011; 9(1):79-83.
Japan	Pet	3	TAT	2011	Tachibana M, Kobayashi N, Inokuma H, Suzuki H, Watarai M. Seroprevalence of Brucella canis infection in dogs in Japan using the tube agglutination test. [Japanese] J Jpn Vet Med Assoc. 2011; 64(7):559-61.
Lagos State Nigeria	Pet	0.27	RSAT	2011	Cadmus SI, Adesokan HK, Ayala OO, Odetokun WO, Perrett LL, Stack JA. Seroprevalence of Brucella abortus and B. canis in household dogs in southwestern Nigeria: a preliminary report. J S Afr Vet Assoc. 2011 Mar; 82(1):56-7.
Shiraz, Iran	Stray	57.2	ICT	2011	Bigdadi M, Namani MM, Moazenilula F, Sadeghzadeh S, Mirzaei A. First study prevalence of brucellosis in stray and herding dogs south of Iran. J Anim Vet Adv. 2011; 10(10):1322-6.
Enviado, Colombia	Shelter	0	ICT	2011	Agudelo P, Molina VM, Arias V, Madrigal E. Canine brucellosis serological study in two shelters of the municipality of Enviado, Colombia (2011). [Spanish] Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 2014;61(2):30-7.
Medellin, Colombia	Pet	2.76	ICT	2012	Agudelo-Florez P, Castro B, Rojo-Ospina R, Henao-Villagas S. Canine brucellosis: seroprevalence and risk factors in pets from eleven neighborhoods in Medellín, Colombia. [Spanish] Revista de Salud Pública. 2012;14(4):644-56.
Apucarana, Brazil	Shelter	4.17	AGID	2012	Silva Lcd, Leuzzi Junior LA, Nassar JLB, Barca Junior FA, Headley SA, Okano W, et al. Serological detection of Brucella canis in shelter dogs from Northern Paraná. [Spanish] Semina: Ciências Agrárias (Londrina). 2012; 33(6):2391-5.
Londrina, Brazil	Shelter	10	AGID	2012	Silva Lcd, Leuzzi Junior LA, Nassar JLB, Barca Junior FA, Headley SA, Okano W, et al. Serological detection of Brucella canis in shelter dogs from Northern Paraná. [Spanish] Semina: Ciências Agrárias (Londrina). 2012; 33(6):2391-5.
Ilheus, Brazil	Pet and stray	3.2	AGID	2012	Bezerra RA, Mendonça CED, Scipião PML, Munhoz AD, Ribeiro ARDP, Carlos RSA, et al. Prevalence of antibodies against Brucella canis in dogs at the Region of Ilheus-Itabuna in the State of Bahia, Brazil. [Portuguese] Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 2012;34(1):27-30.
Itabuna, Brazil	Pet and stray	4.3	AGID	2012	Bezerra RA, Mendonça CED, Scipião PML, Munhoz AD, Ribeiro ARDP, Carlos RSA, et al. Prevalence of antibodies against Brucella canis in dogs at the Region of Ilheus-Itabuna in the State of Bahia, Brazil. [Portuguese] Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 2012;34(1):27-30.
Morogoro, Tanzania	Random	0	ELISA	2012	Muharwa AP, Mwakijungu EO, Msolle PLM, Mumbo MMA. Seroprevalence and factors affecting canine monocytic ehrlichiosis and canine brucellosis in Tanzania. Res Opin Anim Vet Sci. 2012;2(3):181-8.
Fars Province, Iran	Kennel	10.62	ICT	2012	Behzadi MA, Moghiseh A. Outbreak investigation of Brucellosis at a Kennel in Iran. Pakistan Vet J. 2011; 31(4):379-80.
Londrina, Brazil	Pet	4.54	AGID	2013	Machado MA. Percentage of dogs seropositives for Brucella canis that presented reproductive problems that were attended at Veterinary Teaching Hospital of the State University of Londrina. [Portuguese] Ars Veterinaria. 2013; 29(3):161-8.
Uberlandia, Brazil	Pet	1.25	AGID	2013	Ribeiro VC, Souza Mad, Castro JRD, Salaberry SRS, Dasso MG, LimaRibeiro AMC. Occurrence of antibodies against Brucella canis and Brucella abortus in dogs from different housing systems. Uberlandia city, MG. [Portuguese] Acta Veterinaria Brasileira. 2013;7:282-284.
Tokushima Prefecture, Japan	Pet	2.5	MAT	2013	Kume A, Shimizu T, Bando H, Ishida M, Uozumi K, Shimohara T. Prevalence of Brucella canis in dogs in Tokushima Prefecture and prevention of infection. J Jpn Vet Med Assoc. 2013; 66(6):415-7.
Antioquia, Colombia	Breeding kennel	15	2ME-RSAT	2013	Castillon-Salazar L, Gralido-Echeverri CA, Sanchez-Jimenez MM, Olivera-Angel M. Factors associated with Brucella canis seropositivity in kennels of two regions of Antioquia, Colombia. [Spanish] Cadenas de Saude Publica. 2013;29(10):1975-87.
Rio Grande do Norte state, Brazil	Pet	28.9	BPAT	2013	Fernandes ARdF, Fernandes AG, Rotondano TEdF, Alves CJ, Kim PdCP, Mota RA, et al. Serological and molecular survey of canine brucellosis in the county of Natal, Rio Grande do Norte state. [Portuguese] Ciencia Rural. 2013;43(9):1629-35.
Londrina, Brazil	Pet	4.54	AGID	2013	Machado MA. Percentage of dogs seropositives for Brucella canis that presented reproductive problems that were attended at Veterinary Teaching Hospital of the State University of Londrina. [Portuguese] Ars Veterinaria. 2013; 29(3):161-8.
Uberlandia city, MG	Mixed	1.25	AGID	2013	Ribeiro VC, Souza Mad, Castro JRD, Salaberry SRS, Dasso MG, LimaRibeiro AMC. Occurrence of antibodies against Brucella canis and Brucella abortus in dogs from different housing systems. Uberlandia city, MG. [Portuguese] Acta Veterinaria Brasileira. 2013;7:282-4.
Araguaina, Tocantins, Brazil	Pet	54.77	AGID	2013	Santana JA, Domesles EMS, Jayme VdS, Galvao SdR, Miniharro S, Santos H, et al. Risk factors and presence of antibodies to Brucella canis and smooth Brucella in dogs from the municipality of Araguaina, Tocantins, Brazil. [Portuguese] Semina: Ciências Agrárias (Londrina). 2013;34(6):2951-5.
Harare, Zimbabwe	Pet	17.6	ELISA	2013	Chinyoka S, Dhlwayo S, Marabini L, Dzulow K, Matop G, Pfenkyl DM. Serological survey of Brucella canis in dogs in urban Harare and selected rural communities in Zimbabwe. J S Afr Vet Assoc. 2014; 85(1):1087.

(Continúa en página 57)

Anexo 2. Fichas utilizadas para la recolección de datos de los individuos a muestrear.

55

Anexo 3. Fichas utilizadas para la recolección de datos de los establecimientos.

Formulario para PREVALENCIA DE BRUCELLA CANIS

Fecha de muestreo:

N° de visita:

Información General sobre el Criadero

- Tamaño del criadero (número de perros): _____
- ¿Cuántas perras están actualmente preñadas? _____
- ¿Ha habido casos de abortos espontáneos en las últimas semanas? _____
¿Cuántos? _____
- ¿Qué perra ha experimentado aborto? _____
- ¿Ha habido casos de abortos? (desde que existe el criadero) _____ ¿En cuantas ocasiones?
- ¿Ha experimentado fallas en reproducción? Ej: infertilidad _____ ¿Cuándo? _____
¿Cuántas veces? _____
- ¿Ha habido casos de cachorros que nacen y mueren a los pocos días? _____
¿Cuándo? _____ ¿Cuántas veces? _____

Información sobre la Historia de Salud de los Perros

- ¿Se han realizado pruebas de brucelosis anteriormente en el criadero? _____
¿Qué resultados dio esa prueba? _____ ¿Cuándo?
- ¿Las pruebas para brucella son programadas cada cierto tiempo? En ese caso ¿cada cuanto? _____
- ¿Ha habido casos de brucelosis canina confirmados en el pasado? (Si es así, proporcionar detalles): _____
- Ha notado alguno de estos signos?

Alteraciones oculares o en la vision, dolor en la espalda o cojera, alteraciones en la micción, masas, pérdida de peso, fatiga o apatía, alteraciones en el pelaje, cambios en comportamiento.

Información sobre las Vías de Transmisión y Fuentes de Contagio:

- ¿Se permite el acceso de perros de otros criaderos? (Si es así, describir las medidas de bioseguridad): _____ ¿Existe la posibilidad que el criadero tenga un contacto con el exterior? (una cerca entre dos casas) _____ ¿van a la veterinaria o viene el vet? _____
- ¿Se realizan apareamientos con perros externos al criadero? (Si es así, describir las medidas de bioseguridad): _____
- Realizan Inseminación artificial? ____ En ese caso, como obtienen el semen? _____
- ¿Cuál es el protocolo de control de vectores (por ejemplo, garrapatas, pulgas) en el criadero? _____
- ¿Cuál es el protocolo de desinfección de las instalaciones y equipos? (productos y frecuencia) _____
- Describa como es el procedimiento al momento del parto: (que hacen) _____

Anexo 4. Fichas proporcionadas por el laboratorio Chemtest para volcar los resultados obtenidos.




Fecha: 27/8/2024

Lote: _____

Test: VETLIS® Brucella iELISA Caninos

Analista: _____

T (°C) / HR (%): _____

Versión: 15VL04_v22092022

Esquema de Siembra (27 muestras)

CN	M4	M12	M20
CN	M5	M13	M21
CP	M6	M14	M22
CP	M7	M15	M23
BM	M8	M16	M24
M1	M9	M17	M25
M2	M10	M18	M26
M3	M11	M19	M27

Pegar aquí los datos de Abs450nm

Criterios de Validez

CP > 1.0	#¡DIV/O!
CN < 0.15	#¡DIV/O!
BM < 0.10	#¡DIV/O!
CP/CN > 6	#¡DIV/O!
Variación CP < 20%	#¡DIV/O!

PR Interpretación

≤ 32%	Negativo
> 32 ≤ 51%	Indeterminado
> 51%	Positivo

CP

#¡DIV/O!

Posición	Protocolo	N° Tubo	Abs450	%PR	Interpretación
M1			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M2			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M3			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M4			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M5			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M6			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M7			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M8			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M9			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M10			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M11			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M12			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M13			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M14			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M15			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M16			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M17			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M18			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M19			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M20			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!
M21			0,00	#¡DIV/O!	#¡DIV/O!

Anexo 5 Materiales del Kit VETLIS® Brucella iELISA caninos.

