

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**PREVALENCIA DE *Brucella canis* EN PERROS Y
PERSONAS EN CONTACTO CON ELLOS EN
LA CIUDAD DE GUATEMALA**

MYRIAM EVELYN GUTIÉRREZ BARBERENA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2001

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**PREVALENCIA DE *Brucella canis* EN PERROS Y
PERSONAS EN CONTACTO CON ELLOS EN
LA CIUDAD DE GUATEMALA**

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos
de Guatemala

POR

MYRIAM EVELYN GUTIÉRREZ BARBERENA

Al conferírsele el Título Académico de

Médico Veterinario

Guatemala, Noviembre de 2001

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO: Dr. MARIO LLERENA QUAN
SECRETARIO: Lic. Zoot. ROBIN IBARRA
VOCAL PRIMERO: Lic. Zoot. CARLOS SAAVEDRA VÉLEZ
VOCAL SEGUNDO: Dr. FREDY R. GONZÁLEZ G.
VOCAL TERCERO: Lic. Zoot. EDUARDO ESPIEGELER
VOCAL CUARTO: MANUEL FRANCISCO ARENAS R.
VOCAL QUINTO: EDWIN ALEJANDRO CHAVEZ G.

Asesores:

Dra. Blanca de Romillo
Dr. Alfredo Viau
Dra. Grizelda Arizandieta

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2001

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el presente trabajo de tesis titulado

PREVALENCIA DE *Brucella canis* EN PERROS Y PERSONAS EN CONTACTO CON ELLOS EN LA CIUDAD DE GUATEMALA

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS sobre todas las cosas.
- A MIS PADRES Miguel A. Gutiérrez O. y Myriam Evelyn B. de Gutiérrez, por su amor, orientación y apoyo a lo largo de mi vida.
- A MI HERMANO Miguel Angel, por tu cariño y ejemplo.
- A JUAN MANUEL por tu apoyo durante mi carrera, por tu amistad y cariño.
- A TODA MI FAMILIA por estar conmigo en todo momento.
- A Dr. ROLANDO VALDÉS† y al personal de la clínica San Francisco de Asís por haber sido fuente de conocimiento y un apoyo para la realización de mi carrera.
- A MIS AMIGOS DE PROMOCIÓN Vanessa, Mayra, Juan Gabriel, José Alfredo, David, Federico, Erick.
- A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS Todo poderoso fuente de luz y sabiduría

- A MIS PADRES Miguel A. Gutiérrez O. y Myriam Evelyn de B. Gutiérrez.

- A MI HERMANO Miguel Angel.

- A JUAN MANUEL.

- A TODA MI FAMILIA.

- A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

AGRADECIMIENTO

- A DIOS por darme la oportunidad de llegar hasta donde estoy.
- A MIS PADRES por el apoyo que siempre me han dado.
- A MI HERMANO porque siempre fue fuente de inspiración.
- A JUAN MANUEL por su apoyo para realizar este trabajo.
- A MIS ASESORES Dra. Blanca de Romillo, Dr. Alfredo Viau y Dra. Griselda Arizandieta; por su orientación tanto para la realización de este trabajo como para afrontar la vida.
- A Los dueños y el personal de las Clínicas y Criaderos que colaboraron desinteresadamente en la recolección de las muestras.
- TO JUDY STACK for her wide support for the achievement of this study.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS.....	3
III. OBJETIVOS	4
3.1. General	4
3.2. Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. Definición.....	5
4.2. Etiología	5
4.3. Transmisión	6
4.4. Patogenia.....	8
4.5. Inmunidad	9
4.6. Signos clínicos y lesiones	10
4.6.1. Infertilidad en la perra	11
4.7. Diagnóstico	12
4.7.1. Medios de cultivo.....	13
4.7.2. Diagnóstico serológico	13
4.7.2.1. Pruebas de rutina	14
4.7.2.2. Pruebas complementarias	15
4.7.3. Diagnóstico por medio de ADN.....	22
4.8. Tratamiento	22
4.9. Prevención	23

4.9.1.	Cuarentena de la perrera	24
4.9.2.	Identificación y eliminación de animales infectados	25
4.9.3.	Prevención de brotes futuros	27
4.10.	Impacto en Salud Pública	27
4.10.1.	Transmisión al humano	27
4.10.2.	La enfermedad en el humano	28
4.10.3.	Prevención	30
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
5.1.	Recursos	31
5.1.1.	Recursos humanos	31
5.1.2.	Recursos de tipo biológico	31
5.1.3.	Recursos de laboratorio	32
5.1.4.	Recursos de campo	32
5.2.	Localidad	32
5.3.	Recolección y procesamiento de las muestras	33
5.3.1.	Diseño del estudio	33
5.3.2.	Cálculo de la muestra	34
5.3.3.	Recolección de muestras de perros	35
5.3.4.	Procesamiento y almacenamiento de la muestra de los perros	35
5.3.4.1.	Procedimiento de SAT-E	35
5.3.5.	Procesamiento de resultados de las muestras de los perros	36
5.3.6.	Toma de muestra a los propietarios de perros seropositivos	36
5.3.7.	Procesamiento y almacenamiento de la muestra del propietario	37
5.3.8.	Procesamiento de resultados de la muestra del propietario	37
5.4.	Análisis de datos	37

5.4.1. Cálculo de la prevalencia.....	37
5.4.2. Cálculo de prevalencia en perros	37
5.4.3. Cálculo de prevalencia en humanos	38
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
VII. CONCLUSIONES	40
VIII. RECOMENDACIONES	41
IX. RESUMEN.....	42
SUMARY	43
X. BIBLIOGRAFÍA.....	44
XI. ANEXOS.....	47
APÉNDICE.....	61

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1	Distribución de razas muestreadas.....	50
CUADRO 2	Distribución por sexos muestreados	53
CUADRO 3	Distribución por edades muestreadas.....	55
CUADRO 4	Distribución general de resultados.....	57
CUADRO 5	Distribución de perros muestreados que presentan síntomas relacionados con la enfermedad, pero a la prueba fueron negativos	59

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1 Distribución de razas muestreadas.....	52
GRÁFICA 2 Distribución por sexos muestreados	54
GRÁFICA 3 Distribución por edades muestreadas.....	56
GRÁFICA 4 Distribución general de resultados.....	58
GRÁFICA 5 Distribución de perros muestreados que presentan síntomas relacionados con la enfermedad, pero a la prueba fueron negativos	60

I. INTRODUCCIÓN

Según datos obtenidos en el Ministerio de Salud Pública se conoce que existe un perro por cada 6 ó 9 habitantes en las áreas rural y urbana, respectivamente. Lo que significa que un 75% de las familias tienen perro¹.

En general se puede decir que el hombre mantiene una relación muy estrecha con el perro, y este tipo de relación es la que predispone y hace factible, que muchas enfermedades padecidas por los individuos de esta especie puedan ser transmitidas al humano (enfermedades zoonóticas), destacándose Dipilidiasis, Sarcoptiosis, Larva migrans cutánea, Brucelosis canina (1).

Por el objetivo de este estudio en esta oportunidad se le concede importancia a la Brucelosis canina que es causada por una bacteria conocida como *Brucella canis*.

Dentro de los estudios más recientes en Guatemala están el de Azañón (1980), quien reportó no haber encontrado animales seropositivos a la enfermedad, sin embargo recomienda realizar otros estudios de esta enfermedad en el futuro (2).

Posteriormente Palacios (1989) reportó 21% de perros seropositivos a *B. canis* de 115 que se muestrearon en la Ciudad de Guatemala (13).

¹ CAMPOSECO, L. 2000. Población canina en la ciudad de Guatemala. Guatemala, Ministerio de Salud Pública. (Comunicación personal).

A pesar de los resultados obtenidos y de las recomendaciones dadas en dicho estudio, actualmente no existen barreras sanitarias en Guatemala que controlen la importación de animales infectados con *B. canis* al país, ni medidas preventivas para cortar su difusión internamente, lo que ayuda a incrementar la prevalencia de la enfermedad y para agravar más la situación los criadores y propietarios de perros desconocen la existencia de la enfermedad y de su importancia, no percatándose así que sus perros, como aquellos con los que son cruzados se encuentren libres de la misma.

Todos los factores enumerados contribuyen a incrementar la diseminación de *B. canis* en lugar de su reducción, sin conocerse en principio cuál sea su prevalencia actual y cuál su impacto en las personas que se mantienen en mayor contacto con los perros seropositivos.

Para poder determinar su efecto sobre la población humana es necesario realizar la actualización de la prevalencia de la enfermedad en perros de la Ciudad de Guatemala, y luego en base a los resultados obtenidos, muestrear a los propietarios y/o personas que se mantengan en mayor contacto con los perros seropositivos, para establecer a nivel local qué grado de transmisión al humano se está dando.

II. HIPÓTESIS

La prevalencia de perros seropositivos a *Brucella canis* si tiene un efecto sobre la prevalencia en personas en contacto con ellos en la ciudad de Guatemala.

III. OBJETIVOS

3.1. General

- Proporcionar una base de datos para que puedan plantearse planes de control y erradicación efectivos de la Brucelosis canina en Guatemala.

3.2. Específicos

- Actualizar los datos sobre la prevalencia de Brucelosis canina en la ciudad de Guatemala.
- Establecer el porcentaje de seropositividad en propietarios o personas que manipulan perros seropositivos.
- Determinar el efecto que tiene la prevalencia de *Brucella canis* en perros sobre la prevalencia en personas en contacto con ellos en la ciudad de Guatemala.
- Conocer qué perros según su sexo, edad y raza son mayormente afectados.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Definición

Infección en el perro, de curso a menudo asintomático o sin manifestaciones típicas; se caracteriza por la presentación de abortos durante el último tercio de la gestación o por el nacimiento de cachorros débiles. Los machos sufren orquiepididimitis, prostatitis o tumefacción escrotal; por regla general padecen esterilidad y las hembras de infertilidad y abortos durante la 7ª a 8ª semana de preñez; también presentan una linfadenopatía (3, 12).

La enfermedad aparece en diversas razas, especialmente en perros Beagle y, sobre todo, en los criaderos de esta especie. Los perros de compañía enferman rara vez (3, 12).

4.2. Etiología

La brucelosis canina es causada por *Brucella canis*, cocobacilo gram negativo, sensible a los desinfectantes yodóforos en presencia de material orgánico, pero resistente a yodopovidona (3, 9, 13).

Fue aislado por Carmichael (1966) del tejido de fetos abortados por una perra, citado por Kirk. Independientemente, ese mismo año otros grupos de investigadores aislaron la *B. canis* de placenta, tejido fetal y descargas vaginales de varias perras que habían abortado (3, 9, 13).

Durante la mitad hacia el final de los años 60 *B. canis* fue reconocida

como una nueva especie de *Brucella* y fue ligada a abortos y desórdenes reproductivos en perros. Este cocobacilo gram negativo que crece difícilmente en medios bacteriológicos ordinarios, está antigénicamente relacionado con *B. ovis*, pero es diferente de la mayoría de especies de *Brucella* por la ausencia de un antígeno lipopolisacárido en su pared celular que tiene propiedades endotóxicas. *B. canis* tiene un número limitado de hospederos. Los rumiantes y los suinos son resistentes a la infección, mientras que los caninos y felinos salvajes son susceptibles a la infección experimental. Los gatos inoculados oralmente presentaron bacteremia, pero las gatas preñadas no abortaron. Infecciones humanas con *B. canis* han sido documentadas, éstas son generalmente más benignas que infecciones con otras especies de *Brucella* (4).

4.3. Transmisión

La transmisión de *B. canis* requiere contacto directo con el organismo, la bacteria es capaz de penetrar membranas mucosas, entrando por el sistema linforreticular. La infección generalmente se inicia por vía oronasal, conjuntival o por transmisión venérea. La infección intrauterina con frecuencia produce aborto. No se ha valorado el posible papel de los cachorros para conservar la infección dentro de la colonia y diseminarla (3, 4, 5, 9).

Descargas vaginales, tejidos placentarios y fetos abortados contienen gran número de microorganismos. El contacto con secreciones y tejidos postparto o postaborto son la fuente de infección más común por la vía oronasal. Además se ha hablado de la transmisión por medio de las transfusiones sanguíneas (3, 4, 9, 15).

Aparentemente las perras infectadas eliminan los organismos en las secreciones vaginales postgestacionales, en la leche o en la secreción vaginal durante el estro o fuera de éste. (3, 4, 9).

En el caso de los machos se da por medio del semen de animales recién infectados y la orina que contiene gran número de microorganismos (3, 4, 9).

La infección congénita de los cachorros es común tanto por las secreciones vaginales como por la leche. La importancia de la eliminación del agente por estos fluidos es que la *B. canis* puede sobrevivir en el ambiente por un período extenso bajo condiciones apropiadas. El microorganismo puede transmitirse a toda la colonia por medio de fomites (3, 4, 9).

Los machos susceptibles pueden ser más fácilmente infectados por el contacto oronasal con la secreción vaginal de la hembra en celo que por transmisión venérea. La infección venérea ocurre de un macho infectado a una hembra susceptible. Los machos infectados eliminan gran número de organismos a través del fluido seminal por varias semanas después de la infección inicial (3, 4, 9).

El organismo se ubica en la próstata y en el epidídimo de machos infectados, resultando en una eliminación del agente por el semen y la orina por dos o más años. La transmisión venérea en machos portadores es más importante en crianza de razas, en donde la enfermedad puede ser devastadora. La transmisión entre perros que viven juntos es probablemente el resultado de la secreción de *B. canis* en la orina y que este penetre por vía

oronasal o conjuntival (3, 4, 9).

4.4. Patogenia

La mayoría de infecciones con *B. canis* en perros son inaparentes. Después que el microorganismo penetra la membrana mucosa, probablemente es llevado a los nódulos linfáticos regionales por medio del drenaje linfático o fagocitado por los macrófagos, en cuyo caso se multiplicará como un parásito intracelular. Esto es seguido por una bacteremia si el perro no es tratado con antibióticos. Dicha bacteremia va a estar asociada a leucocitosis, que dura de 6 a 64 meses (3, 4).

Aunque la infección con *B. canis* se vuelve sistémica, el perro no presenta síntomas de una enfermedad sistémica. Infertilidad en ambos, machos y hembras, abortos y el nacimiento de crías muertas o cachorros débiles, son las manifestaciones más comunes de la brucelosis canina, dándose en fase tardía de la gestación (de 40 a 60 días). La baja natalidad en perras está relacionada con la muerte embrionaria. En algunos casos ambos sexos pueden desarrollar linfadenopatía, espondilitis, inflamación del bazo, uveitis anterior, glomerulopatía o meningoencefalitis (4, 5).

La localización más frecuente de los microorganismos es en:

- Los sistemas linfoide y fagocítico mononuclear (hiperplasia linforreticular).
- La próstata y los testículos del macho (orquiepididimitis, esterilidad).
- El útero grávido de la hembra (esterilidad, aborto).

- Rara vez se afecta el ojo (uveitis anterior), los riñones (glomerulonefritis) o los discos intervertebrales (discoespondilitis) (3, 6).

4.5. Inmunidad

La respuesta humoral se caracteriza por un aumento de las Inmunoglobulinas M (IgM) en las fases iniciales, seguido por el cambio en la síntesis de Inmunoglobulinas G (IgG) a los 7-14 días. Durante el tratamiento las concentraciones de IgG disminuyen a lo largo de los meses. El estancamiento en esta caída de los títulos o una segunda elevación hará sospechar la persistencia de la infección, una recaída o reinfección. La IgM, incluso después de la curación puede ser detectable durante mucho tiempo pero a títulos muy bajos con oscilaciones muy discretas en su concentración (14).

Los conocimientos inmunológicos tienen mucha importancia para interpretar el diagnóstico serológico. La respuesta humoral depende de la producción de inmunoglobulinas de varias clases. Poco después de la infección aparece la IgM, la cual puede detectarse por aglutinación y en parte por medio de la reacción de fijación de complemento y de la prueba del anillo en la leche. Después son demostrables las IgG1 con la reacción de fijación de complemento y la IgG2 por aglutinación. Sigue más tarde la producción de IgA. Los niveles de IgM bajan paulatinamente, mientras que IgG y IgA persisten en concentraciones altas (12).

Los animales pueden contraer la infección latente, antes y después de nacer. El papel protector de los anticuerpos humorales debe estar

subordinado en esencia al de la inmunidad celular. Como parásitos intracelulares facultativos, las brucelas promueven la sensibilización de los Linfocitos T y la activación de los Macrófagos muy poco después de la infección (12).

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de esta infección exploran la presencia de anticuerpos dirigidos fundamentalmente contra el antígeno somático O, lipopolisacárido (LPS, antígenos A y M) o las proteínas del microorganismo. En el momento actual el diagnóstico indirecto se basa en las pruebas de:

- Rosa de Bengala.
- Aglutinación lenta en tubo, aglutinación rápida en placa.
- Coombs anti-Brucella o su modificación Brucella.
- ELISA para IgM, IgG e IgA específica (14).

4.6. Signos clínicos y lesiones

La linfadenopatía generalizada, esplenomegalia y mal desempeño reproductivo son las principales manifestaciones. Son raras la fiebre y la enfermedad sistémica. Además se ha reportado discoespondilitis en perros infectados con *B. canis* (3, 6).

En los machos hay infertilidad y datos físicos de hinchazón escrotal, dermatitis escrotal secundaria a una orquitis, epidídimo agrandado y atrofia testicular. El primer signo reportado fue una piogranulomatosis (3, 4).

Los valores hematológicos y bioquímicos pueden ser tanto inalterados como inespecíficos. Lo que más se ha encontrado en perros afectados es hiperglobulinemia con hipoalbuminemia (5).

El hallazgo más frecuente en perros infectados crónicamente, ha sido la hiperglobulinemia con hipoalbuminemia concomitante. Anormalidades en semen incluyen espermias inmaduros, acrosomas deformados, inflamación de partes intermedias, colas sueltas, aglutinación cabeza con cabeza, que también se acompañan por cambios neutrofílicos e inflamación mononuclear (5).

Los cambios macroscópicos en adultos y en cachorros que sobreviven se reducen a linfadenopatía y esplenomegalia; los cambios histológicos son hiperplasia difusa linforreticular. Hay una vasculitis necrozante en los tejidos reproductivos, incluyendo la próstata, escroto, prepucio y vulva (5).

4.6.1. *Infertilidad en la perra*

La *B. canis* puede causar aborto hacia el final de la gestación. Además, existe un riesgo potencial para la perra infectada con *Brucella* de ser infértil o que el microorganismo cause la reabsorción del feto en etapas tempranas de la gestación, o nacimiento de crías muertas o cachorros enfermos. Cuando se presenta la muerte fetal durante el primer tercio, no hay signos manifiestos de pérdida de embarazo. En consecuencia, quien maneja la perrera puede suponer que nunca ocurrió la concepción y que la perra no es fértil. Sin embargo puede haber secreción persistente de 1 a 6 semanas después del aborto y dificultad para concebir, debido a la reabsorción fetal temprana. Algunas anormalidades no reproductivas incluyen hiperestesia espinal,

paresis o parálisis. Además hay cambios neutrofilicos e inflamación mononuclear (3, 4, 5, 9).

En las hembras hay aborto de fetos muertos parcialmente autolisados a los 40-60 días de gestación, (3, 5).

4.7. Diagnóstico

Se debe sospechar de brucelosis en cualquier perra que aborte dos semanas antes de término, además debe considerarse el diagnóstico de *B. canis* en perras cuando los rendimientos de reproducción son menores a los esperados en animales normales, sanos (3, 9).

Todas las perras en programas activos de crianza, especialmente aquellas con problemas de infertilidad, deben ser evaluadas de brucelosis canina. La prueba de aglutinación rápida en placa es una prueba excelente. Los falsos-negativos son poco frecuentes y, un resultado negativo puede ser confiable. Las perras que resulten seropositivas deberán ser reevaluadas con la prueba lenta en tubo porque se pueden dar los falsos-positivos. Los cachorros que nacen de perras infectadas suelen ser débiles y no sobreviven hasta la edad de destete (3, 4, 9).

El diagnóstico se confirma con el aislamiento e identificación del organismo o por medio de pruebas serológicas para determinar los títulos de anticuerpos contra *B. canis*. El organismo puede ser aislado de fetos abortados, placenta, descargas vaginales, semen, biopsias o sangre (Ver Apéndice) (3, 5).

4.7.1. *Medios de cultivo*

La sangre o los tejidos son cultivados en caldo soya tripticasa con 1% de citrato. A intervalos de varios días, se hacen subcultivos en medios sólidos de composición similar o en infusión gelosa de hígado. Las muestras que deban cultivarse se tienen que utilizar en medios *Brucella* que contienen hemina y vitamina K, y un medio selectivo que contenga medicamentos antimicrobianos y otras sustancias que inhiban la proliferación de bacilos entéricos gramnegativos y de los cocos grampositivos anaerobios y anaerobios facultativos. Todos los cultivos son incubados en 10% de CO₂ y deben ser observados y resembrados durante 6 semanas antes de que se descarten como negativos (6, 7, 8).

Si se aíslan organismos parecidos a las brucelas se tipifican por la producción de H₂S, inhibición por colorantes y aglutinación con sueros absorbidos. Como regla, las brucelas pueden ser cultivadas a partir de los pacientes solamente en la fase aguda de la enfermedad (7, 8).

Un cultivo de sangre positivo depende de la bacteremia prolongada característica de la brucelosis. También pueden cultivarse microorganismos de *Brucella* en orina, semen, secreciones vaginales y tejidos fetales abortados. El cultivo se hace muy difícil en enfermedades crónicas, debido a la bacteremia intermitente (3, 5).

4.7.2. *Diagnóstico serológico*

Debido a que otras bacterias producen anticuerpos que reaccionan en forma cruzada con *B. canis*, los resultados falsos positivos son un problema.

La hemólisis (hemoglobina) también causa resultados falsos positivos. Pueden haber resultados falsos negativos por secuestro de infección o antibióticos recientes. Se requiere de 4-8 semanas para la seroconversión; por lo tanto, cuando se evalúa a perros para que ingresen a un criadero como reproductores, se requieren pruebas negativas al día 1 y, 4 semanas después (3, 9).

Al mismo tiempo que se investiga la fuente de infección es necesario buscar la forma de transmisión dentro de la perrera (9).

4.7.2.1. Pruebas de rutina

- *Prueba rápida en placa*

El examen rápido de aglutinación en placa es una prueba de evaluación en el consultorio para descubrir sospechosos que necesiten evaluación posterior. Esta prueba tiene valor de predicción confiable, pero son comunes los resultados falsos positivos. Casi el 99% de los negativos son realmente negativos, en tanto que la mitad o dos tercios de los positivos se confirman como verdaderamente infectados (3).

- *Prueba lenta en tubo*

Las pruebas de aglutinación en tubo y la de inmunodifusión en agar gel están disponibles en laboratorios comerciales y oficiales de otros países. Estos títulos son más específicos para brucelosis pero no son definitivos. Títulos de 1:50 a 1:100 son sospechosos y títulos mayores o iguales a 1:200 son altamente

sugerentes de infección(3, 5).

4.7.2.2. Pruebas complementarias

- *Rosa de Bengala*

Detecta fundamentalmente anticuerpos para el LPS (A+M). Consiste en una aglutinación en porta objetos o placas de vidrio cuadrículadas con brucelas suspendidas en tampón lactato (muy ácido) coloreado con Rosa de Bengala. Tiene un valor predictivo muy alto y tiene la ventaja de realizarse con el suero sin diluir. Es positiva en el 99% de los enfermos que padecen brucelosis o que han tenido contacto previo con el agente. Es una prueba que presenta escasísimos fenómenos de prozona por lo que su negatividad descarta prácticamente la enfermedad brucelar y su positividad, en presencia de síntomas, confirma la infección. Detecta el mismo tipo de anticuerpos que la seroaglutinación por lo que la correlación entre ellas es muy buena. Puede realizarse con diluciones seriadas del suero y obtener así un resultado cuantitativo en forma de título, pero desde el punto de vista económico este procedimiento es más caro que la aglutinación en tubo (10, 14).

Algunas muestras que tienen anticoagulantes pueden producir con este test fenómenos de floculación simulando resultados positivos. En manos experimentadas estos fenómenos son fácilmente distinguibles mediante la observación con lupa del sobrenadante que adquiere un aspecto lechoso muy diferente de lo que ocurre con el control positivo (14).

- *Prueba del mercapto etanol*

Se diferencia de la prueba en tubo por el tratamiento del suero problema con 2-mercapto etanol. Esta prueba tiene la característica que las inmunoglobulinas de las vacas vacunadas (IgM) son sensibles al mercapto etanol únicamente por un período corto después de la vacunación (16).

- *Prueba de rivanol*

Es una técnica utilizada para reducir las reacciones falsas positivas separando por precipitación las IgM al contacto con el rivanol. En esta prueba no se detectan infecciones tempranas donde predomina IgM (10).

- *Seroaglutinación*

Desde hace mucho tiempo es la prueba más utilizada. Es sencilla, sensible y específica. Puede realizarse en tubo o en placa de microtitulación y al igual que Rosa de Bengala detecta anticuerpos para el LPS. Mide globalmente IgG e IgM (10, 14).

La actividad aglutinante de un suero está ligada a inmunoglobulinas de las clases IgM, IgG e IgA, especialmente a IgM. Los anticuerpos aglutinantes hacen su aparición muy pronto y alcanzan su título más elevado rápidamente. En la enfermedad aguda son ya frecuentes títulos muy superiores a 1/160 - 1/320 (100-200 UI/ml), casi siempre superiores a 1/512 en la primera muestra, pudiéndose demostrar una disminución significativa de los mismos entre el 4º y 5º mes después de la fase inicial de la enfermedad con persistencia muy prolongada de los mismos. Es excepcional objetivar una

seroconversión en el inicio de la enfermedad (14).

- *Test de Coombs anti-Brucella*

En algunos pacientes, principalmente en aquellos en los que se cronifica la enfermedad, se producen además otro tipo de anticuerpos de clase IgG caracterizados por la ausencia de poder aglutinante. Para detectar estos anticuerpos se aplica la técnica de Coombs al test de la aglutinación en tubo o en microplaca. La prueba es muy laboriosa ya que requiere centrifugación y lavados sucesivos de los tubos negativos a la aglutinación, adición posterior de globulina anti-humana, incubación y lectura. Un título de Coombs se considera positivo solamente cuando su valor supera al obtenido con la aglutinación al menos en dos diluciones. Esto quiere decir que un suero con título de aglutinación 1/640 y prueba de Coombs de 1/1280 es Coombs negativo y con título superior a 1/2560 positivo. Nunca la prueba de Coombs puede ser de inferior título al obtenido con la aglutinación ya que por definición con aquella también se miden anticuerpos aglutinantes. Si esto ocurre se deberán repetir ambas (14).

La producción de anticuerpos no aglutinantes es más frecuente en las formas evolucionadas no curadas de brucelosis por lo que la positividad evidente del test será indicio de esta forma clínica de enfermedad. En general, en las fases crónicas o en las recaídas de la infección los títulos del Coombs anti-Brucella son muy elevados, y superan con mucho a los obtenidos mediante la aglutinación (14).

Tomado independientemente y dada su gran sensibilidad esta prueba

podría ser considerada como la mejor de todas en cuanto a pruebas de rutina o tamiz para el diagnóstico de brucelosis, puesto que tiene la posibilidad de detectar todos los tipos de anticuerpos anti-Brucella. Su complejidad no hace viable su utilización en este sentido (14).

Recientemente se puede obtener en el mercado un nuevo reactivo para el diagnóstico de la brucelosis. Su diseño permite la detección simultánea de los anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes con lo que se obtiene una alta sensibilidad para el diagnóstico. Es una prueba de inmunocaptura-aglutinación para la detección de anticuerpos totales que se realiza de forma simple y cómoda. La prueba consta de tiras de pocillos de fondo en U tapizados con inmunoglobulina antihumana. Tras la adición de los sueros y su dilución seriada con micropipeta se añade el antígeno (brucella coloreada, muerta por calor y tratamiento posterior con formaldehído al 0,5%) y se incuba hasta que se produce la aglutinación. Esta se hace visible por la formación de una monocapa de antígeno recubriendo el pocillo. Con este procedimiento se ha obtenido una elevada correlación con la prueba clásica de Coombs con la ventaja de que su realización es mucho menos laboriosa y no necesita de elementos auxiliares. Probablemente este procedimiento sustituya al clásico Coombs anti-brucella y pueda ser empleado en cualquier tipo de laboratorio (14).

- *Fijación de complemento*

Es una técnica menos utilizada debido a su complejidad. No obstante es una prueba muy específica. La capacidad de fijación del complemento se

detecta más tardíamente que la aglutinante pero persiste durante largo tiempo (12-13 meses). En la brucelosis aguda los títulos obtenidos por fijación de complemento son similares o ligeramente inferiores a los de seroaglutinación. En los casos de evolución crónica los resultados son semejantes a los obtenidos con la prueba de Coombs (10, 14).

- *Pruebas enzimáticas (E.L.I.S.A.)*

Desde hace algún tiempo están apareciendo diferentes trabajos y publicaciones sobre la aplicación de los test enzimáticos al diagnóstico serológico de la brucelosis. En casi todos ellos el antígeno ligado a la fase sólida es el lipopolisacárido de la pared bacteriana más o menos purificado. En ocasiones se ha utilizado el microorganismo entero y en otros proteínas de membrana (14).

Del análisis de la literatura está claro que estos test pueden detectar inmunoglobulinas específicas con sensibilidades que oscilan entre el 93 y 97% con una especificidad del 98%. Esta sensibilidad parece aumentar si el antígeno empleado es de naturaleza proteica. La aplicación experimental de estas pruebas evidenció la posibilidad de diagnosticar infecciones brucelares en estadios muy tempranos en los que la serología convencional aún no era positiva e incluso en algunos casos, confirmados por aislamiento del microorganismo, en los que nunca fue positiva(14).

La valoración de los resultados obtenidos con ELISA debe de ser individualizada, esto es, comparando las concentraciones de las diferentes clases de anticuerpos a lo largo de la enfermedad medidas contra un control

que deberá establecerse (14).

La principal aportación de ellas es la posibilidad de medir por separado las diferentes clases de inmunoglobulina IgM, IgG, e IgA específica (14).

Los trabajos más interesantes son aquellos que tratan de correlacionar estos niveles con los resultados de las pruebas clásicas y con la situación clínica del paciente. En este sentido, se ha obtenido una buena correlación entre los niveles de IgM y los títulos de seroaglutinación así como los de IgG con la prueba Coombs y la fijación de complemento. Esto indica que las concentraciones de IgM están más elevadas en la fase aguda de la enfermedad que en las recaídas y fases crónicas en las que el predominio de anticuerpos se debe a la IgG (14).

Desde el punto de vista cinético está suficientemente demostrado que durante la fase aguda existe una respuesta de anticuerpos clásica: aumento de IgM e IgG y que a lo largo de la evolución de la enfermedad el título de IgM va descendiendo. Aunque algunos autores postulaban lo contrario los anticuerpos de clase IgM no vuelven a elevarse de forma significativa en los casos de una nueva recaída o de reinfección (14).

La IgM puede detectarse con títulos decrecientes durante unos 8-10 meses. En los casos que evolucionan a la curación, la IgG específica puede ser detectada con títulos progresivamente decrecientes aproximadamente unos 30 meses y sólo se mantienen estables y elevados o aumentan en los casos de reinfección o recaída (14).

ELISA IgA alcanza igualmente valores elevados en todas las formas de enfermedad y ocupa una posición intermedia entre ambas con persistencias medias de 18 meses. Al igual que ELISA, IgG se eleva en las recaídas y reinfecciones (14).

El problema de la utilización de estas pruebas surge de la poca experiencia clínica que existe para correlacionar los resultados con la evolución clínica. Pocos autores se han planteado la realización de ELISA total (IgG+IgM+IgA) como prueba diagnóstica única de gran sensibilidad para la búsqueda de anticuerpos. En este sentido parece que en el 99% de los pacientes con aislamiento positivo de brucella tienen esta prueba positiva a pesar de poder ser negativos a algunos de los test clásicos (14).

La medida de la avidéz de los anticuerpos por su antígeno también puede cuantificarse fácilmente con la metodología ELISA. Existen algunos trabajos que demuestran con esta técnica baja avidéz, en el 70% de los pacientes con fase aguda y alta avidéz en el resto de las formas clínicas (14).

La aplicación de ELISA en la infección del Sistema Nervioso Central ha abierto los horizontes de su diagnóstico. El 99% de los Líquidos Céfalo Raquídeos (LCR) testados en estos casos son positivos para IgG y aproximadamente un 70-80% lo son también para IgM e IgA. Es una prueba muy específica de tal manera que su negatividad descarta prácticamente la neurobrucelosis. En esta forma clínica sólo la positividad de las pruebas clásicas (Rosa de Bengala, Aglutinación y Coombs) puede confirmar la afección del Sistema Nervioso Central (SNC) pero existen falsos negativos por

falta de sensibilidad (14).

- *Inmunodifusión en agar*

También se ha desarrollado esta prueba como un procedimiento sensitivo para el diagnóstico de brucelosis canina. En esta prueba se han utilizado dos antígenos, tanto de la pared celular como del citoplasma. En el antígeno del citoplasma la prueba es más específica en detectar infecciones en perros cuando otras pruebas son equívocas o negativas. Esta prueba deberá ser utilizada como una prueba confirmativa (5).

4.7.3. *Diagnóstico por medio de ADN*

- *Diagnóstico mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)*

La microbiología molecular también ha entrado en el diagnóstico de esta infección. La literatura referente a PCR y brucela de los dos últimos años presenta abundantes trabajos y ensayos. La característica común de todos ellos es la sensibilidad que muestran para la detección de brucela en diferentes muestras (sangre, médula, leche, orina etc.). PCR es empleada también para la determinación de la especie infectante y estudios epidemiológicos. No cabe duda que en un futuro próximo, dada la dificultad y tiempo empleado en el aislamiento de la brucela, la PCR tomará un evidente protagonismo en los laboratorios clínicos (14).

4.8. Tratamiento

Los microorganismos de *Brucella* son refractarios a los antibióticos y muy

difíciles de erradicar, debido a su localización intracelular y, en machos, la inaccesible barrera sanguínea de la próstata. Puede haber recaída al discontinuar la terapia, por esta razón se recomiendan tratamientos repetitivos. Perros machos infectados raramente se recuperan, y pueden volverse estériles. En cambio en hembras si se ha visto recuperación y han vuelto a programas de reproducción con cuidados extremos (3, 5).

Uno de los antibióticos recomendados son minociclina (3, 5).

Para monitorear la eficacia del tratamiento se deben realizar pruebas serológicas con titulación cada 3 - 6 meses (5).

Se recomienda que no se vuelva a efectuar la cruce, sino la castración o la ovariectomía de los animales afectados (3).

Además, la precaución para las personas en contacto con perros positivos a *Brucella*, debido a que en raras ocasiones ha ocurrido infección humana. La brucelosis canina se considera un riesgo menor de salud pública. Por este riesgo se recomienda la castración en mascotas (3).

4.9. Prevención

Se deben examinar todos los perros para reproducción en busca de *Brucella* antes de que entren al programa de cruce y, lo ideal, antes de cada cruce con hembras y una o dos veces al año en machos; deben eliminarse a los perros infectados de los criaderos (3).

Es necesario revisar los métodos de desinfección de las jaulas y equipo. Hay que atender especialmente la higiene de quienes cuidan a los animales por el potencial zoonótico de *B. canis* y la posibilidad de que estas personas sean la forma de transmisión sin saberlo (9).

4.9.1. *Cuarentena de la perrera*

Es necesario que la perrera se ponga en cuarentena tan pronto se confirma el diagnóstico de *B. canis*. En casos de perreras en que los signos clínicos de infección por *B. canis* son comunes, quizás sea prudente poner en cuarentena a toda la colonia tan pronto se sospecha de la enfermedad, en tanto se confirma el diagnóstico. No deben admitirse ni sacarse animales de la perrera hasta ser confirmado que la enfermedad se erradicó (9).

Los nuevos ingresos no sólo tienen el riesgo de infectarse sino que aumentan el número de animales que deben valorarse durante los procedimientos de erradicación, y ello implica un incremento innecesario del riesgo y costo. No deben sacarse animales de la perrera para venta u otras actividades porque es posible que transmitan la infección de manera directa o indirecta al contaminar el ambiente (9).

Es importante recordar que la forma más común de transmisión de *B. canis* es por ingestión del microorganismo. Algunos administradores de perreras piensan equivocadamente que sus animales están a salvo de la infección en tanto no ocurra el coito. Es necesario restringir el movimiento de los animales dentro de la colonia para evitar mayores exposiciones en tanto se investiga la fuente de la infección y la forma de transmisión (9).

4.9.2. *Identificación y eliminación de animales infectados*

Después de confirmar la infección por *Brucella canis* en una perrera, es necesario hacer pruebas en todos los animales de la colonia cada mes hasta que se erradique. El estudio y la eliminación de animales infectados es el único método comprobado para erradicar una infección por *B. canis* de una perrera. Según Nicoletti (1989), hasta la fecha, ningún régimen terapéutico para *B. canis* ha sido 100% eficaz (9).

En una perrera no son aceptables los regímenes de antibióticos con menos del 100% de eficacia porque es posible que la infección persista en la colonia. Los perros que se tratan sin éxito, sin importar qué tan pocos sean, permanecen como fuente de infección para la totalidad de la colonia. Incluso los que se tratan "con éxito" tienen riesgo, porque son fácilmente susceptibles a una reinfección, según Flores-Castro y Carmichael (1977), citados por Kirk (1995). El aislamiento estricto de perros infectados aunado a procedimientos sanitarios rígidos no ha protegido a los animales no infectados en la perrera (9).

Debido a la naturaleza insidiosa de *B. canis*, con frecuencia el administrador de la perrera no tiene razón para sospechar que tiene la infección, hasta que ocurren abortos súbitos o infertilidad. En consecuencia en el momento en que se reconoce el caso índice o cero, el clínico debe suponer que muchos miembros de la colonia han tenido la posibilidad de exponerse y se encuentran en diversas etapas de incubación (9).

Los animales que se han infectado en fecha reciente no se identifican de

inmediato porque los anticuerpos no suelen alcanzar valores detectables hasta 8 a 12 semanas después de la infección; incluso los hemocultivos pueden ser negativos durante las 4 primeras semanas, por lo que es importante tener presente aunque quizá no sea factible detectar a estos animales recién infectados, éstos son capaces de transmitir la infección a otros (9).

Durante las pruebas mensuales se estudian todos los animales de la colonia, incluso los que fueron negativos en pruebas anteriores. Todos los positivos se eliminan de inmediato en cuanto se identifican. Cabe esperar identificar más perros positivos en los 4 a 5 meses siguientes, que representa el tiempo desde la infección hasta que se detectan anticuerpos mediante pruebas serológicas en animales expuestos inicialmente y en los que se han expuesto a perros infectados pero no reconocidos en los estudios serológicos de las primeras rondas de pruebas en la colonia (9).

Deben continuarse las pruebas cada mes en todos los miembros restantes de la colonia hasta que un mínimo de tres pruebas mensuales consecutivas no identifiquen algún animal positivo. Si se cierra la colonia, se estudia cada mes la totalidad de la misma y eliminan todos los animales positivos; tal vez sea necesario continuar las pruebas mensuales durante 7 a 8 meses. Ello representaría 4 a 5 meses durante los cuales es probable que se identifiquen nuevos perros positivos, seguidos de tres meses consecutivos de pruebas con resultados negativos. Posteriormente, suelen bastar pruebas trimestrales o semestrales para comprobar que continúa erradicada la enfermedad. Si no se cierra la colonia, es posible que continúen las pruebas mensuales por tiempo indefinido a medida que regresan miembros anteriores de la colonia (9).

4.9.3. *Prevención de brotes futuros*

No existe una vacuna para *B. canis*. Los brotes futuros se evitan previniendo la exposición de los animales reproductores al microorganismo; ello se lleva a cabo mediante una cuarentena rígida de todas las nuevas adquisiciones hasta que todas las pruebas durante un período de 8 a 12 semanas indiquen resultados negativos (9).

Una perrera para reproducción no debe considerar la adquisición de animales que se sabe que fueron expuestos a *B. canis* y a los que presenten signos clínicos. También es necesario diseñar procedimientos adicionales ajustados a cada perrera; el determinante más importante será que permanezca cerrada (9).

En perreras que no se cierran, es necesario certificar que los animales que se alojan temporalmente en dichos locales, como los que se aparearán, sean negativos a *B. canis* antes de ingresar y no debe permitirse que tengan acceso a miembros permanentes de la colonia. Hay que estudiar a los sementales que se aparean con perra de otras colonias antes de permitir que se apareen con perras de su colonia. Es además necesario estudiar a las perras antes del apareamiento. Los miembros de la colonia que salen temporalmente de la perrera deben estudiarse antes de admitirse nuevamente (9).

4.10. Impacto en Salud Pública

4.10.1. *Transmisión al humano*

El hombre es susceptible a la infección por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*. No se han comprobado casos humanos por *B. ovis* o *B. neotomae*.

Las especies más patógenas e invasoras para el hombre son *B. melitensis*, seguida en orden decreciente por *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis* (1).

También es posible que las verduras crudas y el agua contaminada con excretas de animales infectados sirvan de fuente de infección. La brucelosis humana por *B. canis* afecta a manipuladores de perros, trabajadores de perreras, personal de laboratorio, personas en estrecho contacto con perros infectados y médicos veterinarios. La transmisión por aerosol se demostró experimentalmente. En laboratorios, un riesgo especial lo presentan las centrifugaciones de suspensiones brucelares en centrífugas no herméticamente cerradas (1).

4.10.2. *La enfermedad en el humano*

La severidad de la enfermedad va de moderada, a recurrente o crónica. La transmisión al humano es rara pero es posible por contacto directo con las secreciones del tracto genitourinario, especialmente los fetos abortados o la placenta de perros contaminados, su sangre y tejidos. Además la orina, en machos, más que todo. La enfermedad humana se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza y mialgias (4, 5).

El período de incubación en general dura de una a tres semanas, pero a veces puede prolongarse por varios meses. Es una enfermedad septicémica de principio repentino o insidioso, con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de la brucelosis aguda, como de muchas otras enfermedades febriles, consiste en escalofríos, sudores profusos y elevación

de la temperatura corporal. Un síntoma casi constante es la astenia y cualquier ejercicio produce una pronunciada fatiga. La temperatura puede variar de normal en la mañana hasta 40°C en la tarde; los sudores se presentan durante la noche y se caracterizan por un olor particular. Los síntomas comunes son insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalalgia, artralgia y dolores generalizados. La enfermedad produce un fuerte impacto sobre el sistema nervioso, que se traduce por irritación, nerviosismo y depresión. Muchos pacientes tienen los nódulos periféricos aumentados de volumen o esplenomegalia y con frecuencia hepatomegalia, pero raramente ictericia (1).

Las brucelas se localizan intracelularmente en los tejidos del sistema reticuloendotelial, tales como los nódulos, la médula ósea, el bazo y el hígado. La reacción tisular es de tipo granulomatoso. La duración de la enfermedad puede ser desde pocas semanas o meses a varios años. La terapéutica actual ha permitido reducir en forma considerable la duración de la enfermedad, como también las neuritis periféricas, espondilitis, artritis supurativas y endocarditis vegetativas (1).

En cierto número de pacientes la brucelosis tiene un curso crónico que puede durar muchos años, con o sin presencia de focos de infección localizada. Los síntomas están asociados con un estado de hipersensibilidad. El diagnóstico de la brucelosis crónica es difícil (1).

Se caracteriza por una fase febril aguda con pocos signos de localización o sin ellos, y por una fase crónica con episodios recurrentes de fiebre,

debilidad, sudoración y dolores vagos (11).

En humanos se han utilizado tetraciclinas para su tratamiento, las cuales han sido efectivas(5).

4.10.3. *Prevención*

El modo más efectivo para prevenir la transmisión de la enfermedad del perro al humano es por medio de la castración y la ovariectomía en perros machos y hembras, respectivamente (4).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Recursos

5.1.1. *Recursos humanos*

- Médicos veterinarios que recolectaron las muestras en las clínicas veterinarias.
- Personas que recolectaron las muestras de las clínicas veterinarias.
- Personal de laboratorio que esterilizó tubos de ensayo y envases para sueros.
- Personal de laboratorio que procesó las muestras en el laboratorio y realizó las pruebas.
- Persona calificada (médico, químico biólogo o enfermera) que recolectaría las muestras de los propietarios de los perros.

5.1.2. *Recursos de tipo biológico*

- 245 perros procedentes de la ciudad de Guatemala.
- Persona con mayor contacto con el perro seropositivo.
- Antígeno de *Brucella canis* para la prueba Lenta en Tubo (SAT-E), procedente de los Laboratorios Veterinarios Agencia Ejecutiva del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentos de Inglaterra.

5.1.3. *Recursos de laboratorio*

- Congelador
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Pipetas de Bang.
- Incubadora a 37° C.

5.1.4. *Recursos de campo*

- 11 clínicas veterinarias dentro del perímetro de la ciudad, que poseían refrigeradora.
- 400 jeringas de 3 cc.
- 400 tubos de ensayo sin anticoagulante de 10 cc.
- Gradillas.
- 400 envases especiales para suero de 2 cc.
- Hielera para transportar los sueros.
- Vehículo.
- Fichas para recolección de datos.
- Consentimiento informado.

5.2. **Localidad**

El trabajo de campo de la presente investigación se realizó muestreando perros que visitaron clínicas veterinarias ubicadas en diferentes sectores de la ciudad de Guatemala, enfatizándose que los mismos debían provenir de áreas ubicadas dentro de los límites de la ciudad. Entre las clínicas a las que se les solicitó su apoyo están:

Sector Norte

- Univet
- Avila
- Los Cipresales

Sector Sur

- Hospital de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Super Pet

Sector Oeste

- San Francisco de Asis
- Pet Center
- Pets "R" us

Sector Este

- Exotics
- Vista Hermosa
- Santa Fe

5.3. Recolección y procesamiento de las muestras

5.3.1. Diseño del estudio

El presente estudio fue descriptivo observacional de corte transversal, cuyo diseño de muestreo fue al irrestricto azar.

5.3.2. Cálculo de la muestra

- Población humana de la ciudad de Guatemala al 2,000: 1,015,303 de ambos sexos
- Cálculo de la población canina en la ciudad de Guatemala en base al criterio que en un área urbana existe un perro por cada 9 habitantes:

$$\frac{1,015,303}{9} = 112,811 \text{ perros ambos sexos}$$

Concluyendo que la población canina en la ciudad de Guatemala es 112,811¹.

- Calculo de la Muestra

- Fórmula:

$$n = \frac{Nz^2pq}{Nd^2 + z^2pq}$$

- n: muestra
- N: población en estudio
- z: valor tabular
- p: proporción de éxito
- q: proporción de fracaso
- d: error de muestreo

- Muestra:

¹CAMPOSECO, L. 2000. $\frac{112,811(1.96)^2(0.2)(0.8)}{112,811(0.05)^2 + (1.96)^2(0.2)(0.8)}$ Población canina en la ciudad de Guatemala, Guatemala, 245 perros. Ministerio de Salud Pública. (Comunicación personal).

El cálculo de la muestra se realizó con nivel de confianza de 0.95, precisión de 0.05 y una prevalencia previa del 0.2.

5.3.3. *Recolección de muestras de perros*

La recolección de las muestras se hizo por los propietarios de las diferentes clínicas a las que se les solicitó su apoyo, a quienes se les capacitó y se les supervisó. Con cada muestra recolectada se llenó una ficha de recopilación de datos (ver Anexos).

5.3.4. *Procesamiento y almacenamiento de la muestra de los perros*

La recolección de muestras se hizo por medio de jeringas de 3cc., luego se pasó a tubos de ensayo (estériles) sin anticoagulante, después de 24 horas se procedió a la separación del suero, el cual fue pasado a envases especiales (estériles) y congelado de inmediato a -20°C . La muestra fue debidamente identificada según el número de la ficha de recolección de datos.

Las muestras fueron recolectadas cada semana en cada clínica y fueron llevadas para su almacenamiento en congelación al laboratorio.

Al haber recolectado todas las muestras se realizó la prueba de SAT-E.

5.3.4.1. Procedimiento de SAT-E

- Se diluye el antígeno de *Brucella canis* 1:10 en un buffer pH 9 .

- Se pone 920ul de buffer pH 9 en el primer tubo y 500ul en los otros tres.
- Se introduce 80ul de suero a ser analizado en el primer tubo, se mezcla y se transfieren 500ul al siguiente tubo, así sucesivamente a los tres tubos restantes. Los 500ul que se extraen del último tubo se descartan.
- Se incuba a 37° C por 20 horas.
- Para la interpretación se expresó como positivo (+), negativo (-), incompleta (I). Se consideraron como positivos los sueros que presentaron reacción positiva a partir de la primera dilución (1:12.5).

5.3.5. *Procesamiento de resultados de las muestras de los perros*

Luego de realizada la prueba de SAT-E, se identificaría las fichas de recolección de datos de las muestras que salieron seropositivas.

5.3.6. *Toma de muestra a los propietarios de perros seropositivos*

Se tomaría una muestra pareada al azar de una persona que no hubiera en contacto con perro seropositivo por cada muestra tomada de una persona en contacto con perro seropositivo.

Se localizaría a los propietarios de los perros que hubieran salido seropositivos y se tomaría una muestra de la persona en el hogar que mantuviera un mayor contacto con el perro, procedimiento que sería realizado por una persona calificada (médico, químico biólogo o enfermera) y con previo consentimiento de la persona a ser muestreada (ver Anexos).

5.3.7. *Procesamiento y almacenamiento de la muestra del propietario*

Se identificaría adecuadamente y se seguiría el mismo procedimiento y almacenamiento que con las muestras de los perros. Y al haber recolectado todas las muestras se procedería a la realización de la prueba de SAT-E.

5.3.8. *Procesamiento de resultados de la muestra del propietario*

Se identificaría las fichas de recolección de datos de los propietarios que hubieran salido seropositivos.

5.4. Análisis de datos

5.4.1. *Cálculo de la prevalencia*

El cálculo de la prevalencia se realizó a través de un cálculo de regla de tres, tomando como base la muestra (n) como 100% y los seropositivos como x:

$$p = \frac{x}{n} * 100$$

5.4.2. *Cálculo de prevalencia en perros*

Se realizó en base a los siguientes aspectos:

- General
- Por raza
- Por sexo
- Por edad

5.4.3. *Cálculo de prevalencia en humanos*

Se realizaría tomando como población total el número de personas muestreadas.

Con los datos observados se calcularía la prevalencia de seropositivos en perros y personas en contacto con ellos.

Para establecer la relación entre los seropositivos y los atributos (raza, sexo y edad) se realizaría la prueba de independencia de χ^2 y para determinar el efecto de la prevalencia en perros sobre las personas en contacto con ellos se calcularía el riesgo relativo, el cual se calcularía dividiendo las personas seropositivas en contacto con perros seropositivos dentro de las personas seropositivas que no están en contacto con perros seropositivos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el muestreo que se realizó en la ciudad de Guatemala se incluyó 245

perros, en donde estuvieron representados animales de 43 razas diferentes; dentro de éstos habían 98 (40%) machos y 147 (60%) hembras; comprendidos en las edades de 0 a 12 meses 48 (19.59%), de 13 meses a 3 años 90 (36.73%) y mayores de 3 años 107 (43.67%) información detallada en los CUADROS y GRÁFICAS 1, 2 y 3.

Del total de los perros muestreados las razas con mayor número de animales fueron Sin Raza Definida (SRD) con 11.84%, Schnauzer con 8.57%, Pastor Alemán con 7.76% y French Poodle Miniatura el 7.35%.

De los 245 perros muestreados ninguno reaccionó positivo a la Prueba Lenta en Tubo (SAT-E), por lo que se concluye que los perros de la Ciudad de Guatemala se encuentran libres de *B. canis* (CUADRO 4, GRÁFICA 4). Cabe mencionar que en este caso particular la población muestreada corresponde a perros con dueño que pasan la mayor parte del tiempo confinados dentro de la casa, patio o jardín y que tienen un control de montas, por lo que no pueden ser un reflejo de lo que sucede con los perros de la calle.

Si se comparan los resultados de este estudio con los de Palacios (1989) que reporta 21% de perros seropositivos a *B. canis* de 115 que se muestrearon en la Ciudad de Guatemala, luego de haber evaluado los sueros con antígeno de *Brucella ovis*, se puede decir que éstos no coinciden; ello puede explicarse indicando que la Brucelosis canina es una enfermedad altamente específica y que para su diagnóstico es necesario tener un antígeno específico de *B. canis*, obteniéndose así una mayor certeza en su diagnóstico. Por lo expuesto, en

este caso en lugar de observar un aumento en la ocurrencia de casos positivos, se ve una disminución, lo que no se puede atribuir a un programa de control en la enfermedad debido a la inexistencia de uno en Guatemala.

Un 12% de la población muestreada si presentó síntomas relacionados con la enfermedad, pero que al correr la prueba SAT-E con antígeno específico para *B. canis*, se descartó que dichos síntomas fueran causados por esta bacteria. (CUADRO 5, GRÁFICA 5).

No se pudo determinar el efecto de la prevalencia en perros sobre las personas en contacto con ellos; debido a la ausencia de casos seropositivos en los perros muestreados.

VII. CONCLUSIONES

- La prevalencia de perros seropositivos a *B. canis* en la Ciudad de Guatemala es de 0.

- El 12% de la población presenta síntomas relacionados con la enfermedad, que no son causados por la *B. canis*, según el método de diagnóstico utilizado.

VIII. RECOMENDACIONES

- Debido a la importancia de la enfermedad es necesario que se hagan estudios periódicos y de mayor cobertura geográfica para detectar la

enfermedad y así tomar las medidas oportunas que el caso amerite, evaluando su efecto e impacto en la población humana.

- Para el diagnóstico serológico de *B. canis* debe contarse con el antígeno específico en el mercado guatemalteco, ya que existen perros que se sospecha puedan padecer de la enfermedad y no se cuenta actualmente en Guatemala con una prueba específica para confirmar el diagnóstico; únicamente el utilizado para el presente estudio.
- Que todo Médico Veterinario dedicado a la clínica de especies menores y/o a la crianza de perros esté consciente de la importancia de esta enfermedad.

IX. RESUMEN

Con el objeto de establecer la prevalencia de *Brucella canis* en perros y personas en contacto con ellos se realizó la presente investigación en la

ciudad de Guatemala en 245 perros muestreados al azar, utilizando la determinación de Inmunoglobulinas IgG e IgM específicas contra *Brucella canis* procedente de los Laboratorios Veterinarios Agencia Ejecutiva del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentos de Inglaterra por medio de la prueba Lenta en Tubo (SAT-E).

Para el muestreo se recurrió a varias clínicas veterinarias en los diferentes sectores de la ciudad, muestreando perros de 43 diferentes razas; dentro de éstos habían 98 (40%) machos y 147 (60%) hembras; comprendidos en las edades de 0 a 12 meses 48 (19.59%), de 13 meses a 3 años 90 (36.73%) y mayores de 3 años 107 (43.67%).

De los 245 perros muestreados ninguno presentó anticuerpos contra *B. canis*. Por lo que se concluye que los perros confinados en hogares donde les llevan control en la reproducción en la ciudad de Guatemala se encuentran libres de *B. canis*, por lo mismo no se pudo determinar el efecto de la prevalencia de perros seropositivos sobre las personas en contacto con ellos.

En este estudio se pudo determinar que hay un 12% de perros que tienen síntomas relacionados con la enfermedad pero no presentan Inmunoglobulinas específicas contra *B. canis*.

SUMMARY

For the purpose to stablish the prevalence of *Brucella canis* in dogs an people who are in contact with them, the present investigation was made in

Guatemala city, in 245 dogs randomly sampled, using the determination of specific Inmunoglobulins IgG and IgM for *B. canis* with an antigen for Slow Agglutination Test (SAT-E) from the Veterinary Laboratories Agency an Executive Agency of United Kingdom Ministry of Agriculture Fisheries and Food, to be used in a Slow Agglutination Test.

For the sampling of animals, it was required the support of several Veterinary Clinics from different sectors of the city; there where sampled 43 different breeds, including 96 (40%) of males and 147 (60%) females; bearing between the ages of 0 to 12 month 48 (19.59%), an other group between 13 month to 3 years 90 dogs (36.73%) and dogs over the age of 3 years old 107 (43.67%)

From the 245 dogs sampled none presented specific antibodies against *B. canis*. In conclusion the dogs confined in their homes that have controlled breeding in Guatemala city are free of *B. canis*, for which mater it could not be determined the effect of the prevalence of seropositive dogs on the persons in contact with them.

During the study it was determined that 12% of the dogs had symptoms related to the illness, but they did not present specific antibodies for *B. canis*.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. ACHA, P.N.; SZYFRES, B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Estados Unidos, Organización Panamericana de la Salud. p. 16-17, 22-23. (Publicación Científica No. 503).

2. AZAÑÓN ROBLES, M.A. 1980. Determinación de anticuerpos de *Brucella canis* y *B. abortus* en perros de la colonia La Florida, Ciudad Capital. Tesis Med.Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 28 p.
3. BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. 1996. Manual clínico de pequeñas especies. Trad. por Socorro Lara Díaz y otros. México, McGraw-Hill. v.1. p. 153-155, v. 2. p. 1043, 1045, 1068-1070, 1102.
4. ETTINGER, S.J. 1989. Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat. 3 ed. Estados Unidos, W.B. Saunders Company. v.1. p. 7, 191-192, 270-271, v. 2. p. 1842-1843.
5. -----; FELDMAN, E.C. 2000. Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat. 5 ed. Estados Unidos, W.B. Saunders Company. v.1. p. 383, 391, 394, 395, v.2. p. 1527.
6. JAFFE, M.H.; KERWIN, S.C.; FITCH, R.B. 1997. Canine diskospondylitis. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. (EE.UU.) 19(5):551-555.
7. JAWETZ, E.; MELNICK, J.L.; ADELBERG, E.A. 1970. Manual de microbiología médica. Trad. por Amado González Mendoza. 4 ed. México, El Manual Moderno. p. 243-244.
8. -----; et al. 1996. Microbiología médica. Trad. por Jorge Merino Jane. 15 ed. México, El Manual Moderno. p. 288-291.
9. KIRK, R. 1995. Terapéutica veterinaria de pequeñas especies. Trad. por Jorge Orizaga Samperio. 12 ed. México, McGraw-Hill. p. 1177-1187, 1349.
10. LEMUS RECINOS, A. 1995. Presencia de anticuerpos contra *Brucella sp.*, en grupos ocupacionales de personas que habitan en parcelas con alta y baja prevalencia de brucelosis bovina en el parcelamiento Montufar, Moyuta, Jutiapa. Tesis Med.Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 10-30.

11. MANUAL MERCK. 2000. Enfermedades bacterianas causadas por bacilos gramnegativos. España, Merck Sharp & Dohme. 113 p. http://www.msd.es/publicaciones/mmerck/MM_13_157.htm.
12. NICOLET, J. 1985. Compendio de bacteriología médica veterinaria. Trad. por José Romero Muñoz de Arenillas. Zaragoza, España, Acribia. p. 88.
13. PALACIOS ROSALES, A.E. 1989. Detección de caninos seropositivos a *Brucella canis* utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa, aislamiento y confirmación de la bacteria (estudio de 150 casos). Tesis Med.Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 17-19.
14. PICAZO, J.J.; ORTIZ DE URBINA, A.F. 1997. Diagnóstico serológico de la brucelosis. Protocolo de diagnóstico serológico clínico no. 4:1-9. <http://www.fei.es/protocol/sero04.htm>.
15. REJAS LÓPEZ, J.; GONZÁLEZ MONTAÑA, J.R.; ALONZO DÍEZ, A.J. 1997. Formación continua: Transfusión sanguínea. 8 p. <http://www.unileon.es/dp/dmv/formco02.htm>.
16. TARACENA NÁJERA, J.M. 1996. Determinación de seropositividad contra *Brucella abortus* en terneras vacunadas con vacuna cepa B19 y tratamiento simultáneo con oxitetraciclina. Tesis Med.Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 18-22.

XI. ANEXOS

Número de Ficha _____

Ficha de datos de muestras recolectadas para diagnóstico de *Brucella canis*

Fecha: _____ Nombre de Clínica: _____

Datos del propietario

Nombre del propietario: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

Número de personas que viven en la casa: _____

¿Hay niños menores de 12 años en casa? SI ___ NO ___

¿Quién(nes) mantiene(n) mayor contacto con el perro? _____

Datos del perro

Nombre: _____ Raza: _____ Sexo: H ___ M ___ Edad: _____

Tiempo de tenerlo: _____ Procedencia: _____

¿Dónde se mantiene? Dentro de la casa ___ Terraza ___ Patio ___ Calle ___

¿Ha sido cruzado? SI ___ NO ___ ¿Hace cuánto tiempo? _____

¿Hubo parto? SI ___ NO ___ Aborto _____

¿Ha presentado síntomas de la enfermedad? SI ___ NO ___

¿Cuáles?

¿Hay más perros en casa? SI ___ NO ___ ¿Cuántos? ___ Edad: _____

Raza: _____

Sexo: _____

Para uso exclusivo del laboratorio

Resultados

Título del perro: _____ P N

Título del propietario: _____ P N

CONSENTIMIENTO INFORMADO

1. Título del trabajo: "Prevalencia de *Brucella canis* en perros y personas en contacto con ellos en la ciudad de Guatemala"

Guatemala, ____ de _____ de 2,001

2. Yo, _____ después de haberseme explicado la importancia del presente estudio y conociendo que la muestra de sangre que me será tomada se utilizará exclusivamente para los propósitos de esta investigación, doy mi consentimiento para que se me tome una muestra de sangre y autorizo para que dicha muestra sea utilizada para la realización del trabajo de tesis "Prevalencia de *Brucella canis* en perros y personas en contacto con ellos en la Ciudad de Guatemala".

firma

No. de Cédula _____

Nota: Si la persona es menor de edad, el consentimiento lo deberá dar un adulto.

CUADRO 1

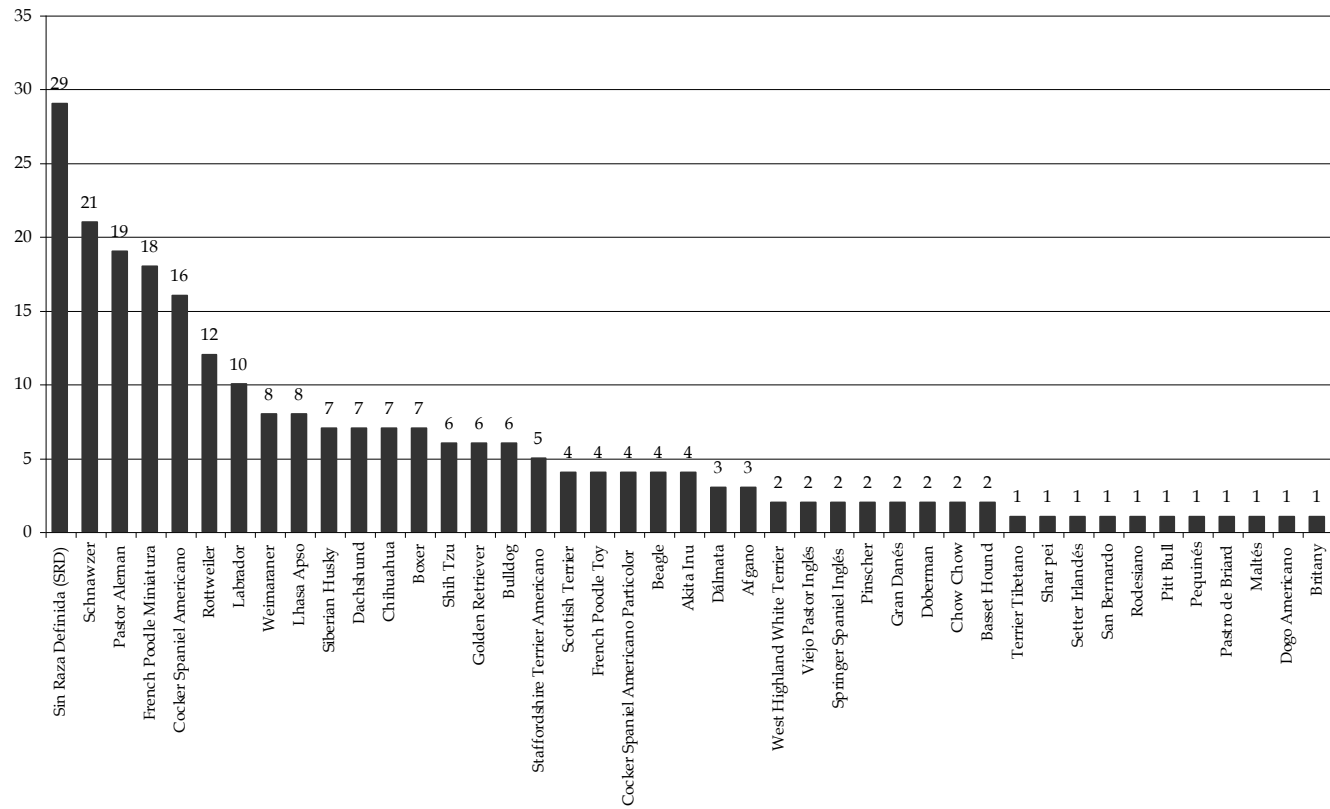
DISTRIBUCIÓN DE RAZAS MUESTREADAS

No.	Raza	Cantidad	Porcentaje
1	Sin Raza Definida (SRD)	29	11,84%
2	Schnauzer	21	8,57%

3	Pastor Alemán	19	7,76%
4	French Poodle Miniatura	18	7,35%
5	Cocker Spaniel Americano	16	6,53%
6	Rottweiler	12	4,90%
7	Labrador	10	4,08%
8	Lhasa Apso	8	3,27%
9	Weimaraner	8	3,27%
10	Boxer	7	2,86%
11	Chihuahua	7	2,86%
12	Dachshund	7	2,86%
13	Siberian Husky	7	2,86%
14	Bulldog	6	2,45%
15	Golden Retriever	6	2,45%
16	Shih Tzu	6	2,45%
17	Staffordshire Terrier Americano	5	2,04%
18	Akita Inu	4	1,63%
19	Beagle	4	1,63%
20	Cocker Spaniel Americano Particolor	4	1,63%
21	French Poodle Toy	4	1,63%
22	Scottish Terrier	4	1,63%
23	Afgano	3	1,22%
24	Dálmata	3	1,22%
25	Basset Hound	2	0,82%
26	Chow Chow	2	0,82%
27	Doberman	2	0,82%
28	Gran Danés	2	0,82%
29	Pinscher	2	0,82%
30	Springer Spaniel Inglés	2	0,82%
31	Viejo Pastor Inglés	2	0,82%
32	West Highland White Terrier	2	0,82%
33	Brittany	1	0,41%
34	Dogo Americano	1	0,41%
35	Maltés	1	0,41%

36	Pastor de Briard	1	0,41%
37	Pequinés	1	0,41%
38	Pitt Bull	1	0,41%
39	Rodesiano	1	0,41%
40	San Bernardo	1	0,41%
41	Setter Irlandés	1	0,41%
42	Shar Pei	1	0,41%
43	Terrier Tibetano	1	0,41%
	Total	245	100,00%

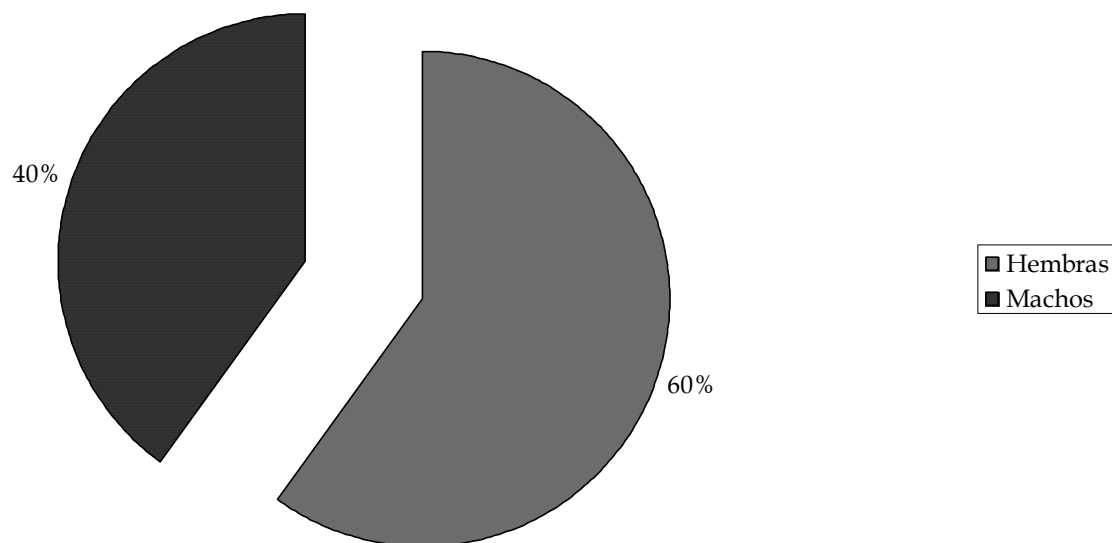
GRÁFICA 1
DISTRIBUCIÓN DE RAZAS MUESTREADAS



CUADRO 2***DISTRIBUCIÓN POR SEXOS MUESTREADOS***

No.	Sexo	Cantidad	Porcentaje
1	Hembras	147	60,00%
2	Machos	98	40,00%
	Total	245	100,00%

GRÁFICA 2
DISTRIBUCIÓN POR SEXOS MUESTREADOS



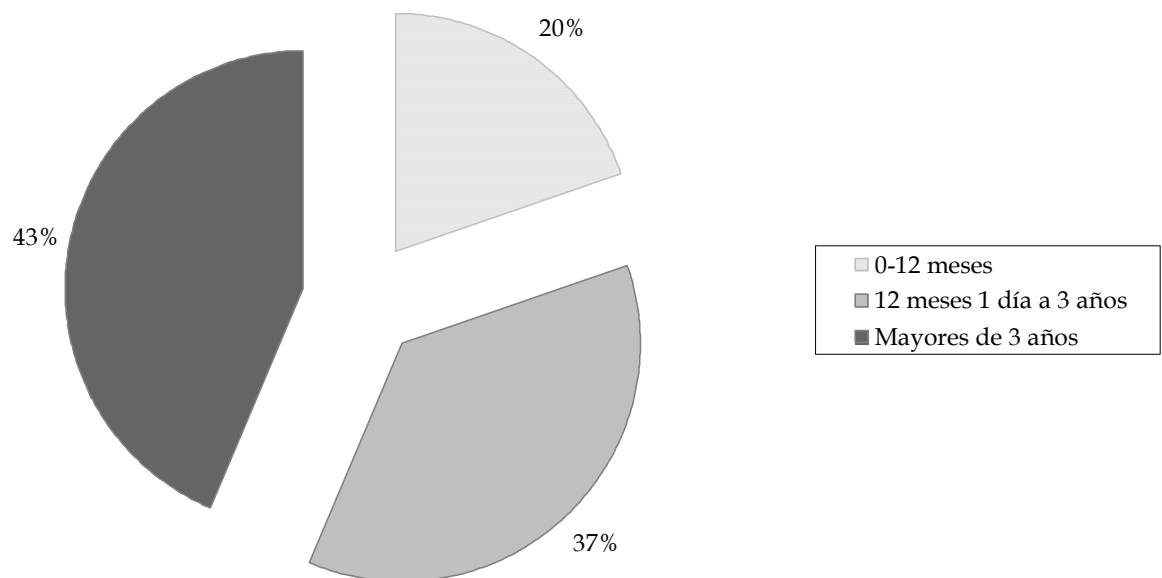
CUADRO 3

DISTRIBUCIÓN POR EDADES

MUESTREADAS

No.	Edad	Cantidad	Porcentaje
1	0-12 meses	48	19,59%
2	12meses 1 día a 3 años	90	36,73%
3	Mayores de 3 años	107	43,67%
	Total	245	100,00%

GRÁFICA 3
DISTRIBUCIÓN POR EDADES MUESTREADAS

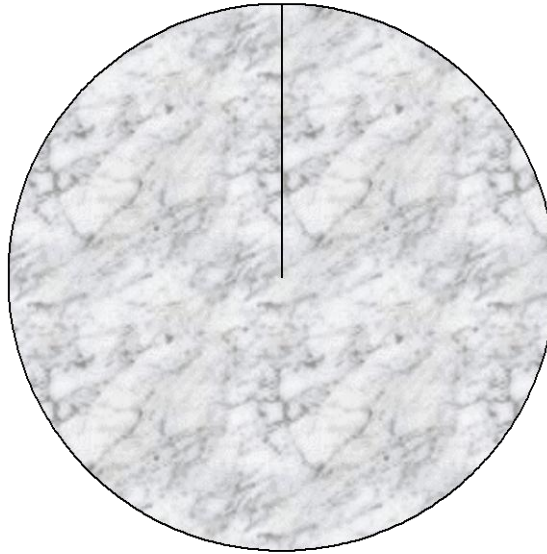


CUADRO 4***DISTRIBUCIÓN GENERAL DE RESULTADOS***

No.	Resultado	Cantidad	Porcentaje
1	Positivos	0	0,%
2	Negativos	245	100%
	Total	245	100,00%

GRÁFICA 4
DISTRIBUCIÓN GENERAL DE RESULTADOS

0



■ Positivos
□ Negativos

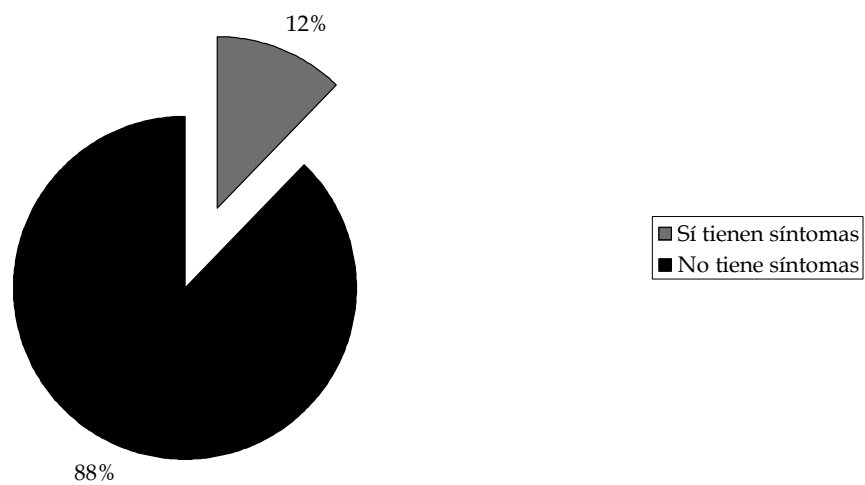
245

CUADRO 5

**DISTRIBUCIÓN DE PERROS MUESTREADOS
QUE PRESENTAN SÍNTOMAS RELACIONADOS
CON LA ENFERMEDAD, PERO A LA PRUEBA
FUERON NEGATIVOS**

No.	Perros con síntomas	Cantidad	Porcentaje
1	Sí tienen síntomas	30	12,24%
2	No tiene síntomas	215	87,76%
	Total	245	100,00%

GRÁFICA 5
DISTRIBUCIÓN DE PERROS MUESTREADOS
QUE PRESENTAN SÍNTOMAS RELACIONADOS CON BRUCELOSIS CANINA,
PERO NO FUERON POSITIVOS PARA LA PRUEBA SAT



APÉNDICE

Confirmación de la infección por *Brucella canis**

Material a cultivar	Tiempo para el cultivo	Resultados esperados
Exudado postaborto	Cuando se presenta	Positivos
Placenta	Cuando se presenta	Positivos
Material abortado	Cuando se presenta	Pueden ser negativos
Semen	3-11 semanas después de la infección	Positivos
	> 60 semanas después de la infección	Positivos, pero se eliminan pocos microorganismos
Sangre +	5-30 semanas después de la infección	100% positivos
Sangre +	6-12 meses después de la infección	> 80% positivos
	28-48 meses después de la infección	50-80% positivos
	48-58 meses después de la infección	25-50% positivos
	> 58 meses después de la infección	< 25% positivos
Epidídimo	35-60 semanas después de la infección	50-100% positivos
	> 100 semanas después de la infección	Negativos
Orina	8-30 semanas después de la infección	Por lo general positivos; los machos eliminan más microorganismos
Próstata	Hasta 64 semanas después de la infección	Por lo general positivos
Nódulos Linfáticos, bazo y médula ósea	Cuando el animal no es bacterémico	Positivos o Negativos
Ojo	Cuando hay uveítis	Por lo general positivos
Disco intervertebral	Cuando hay discoespondilitis	Positivos o Negativos

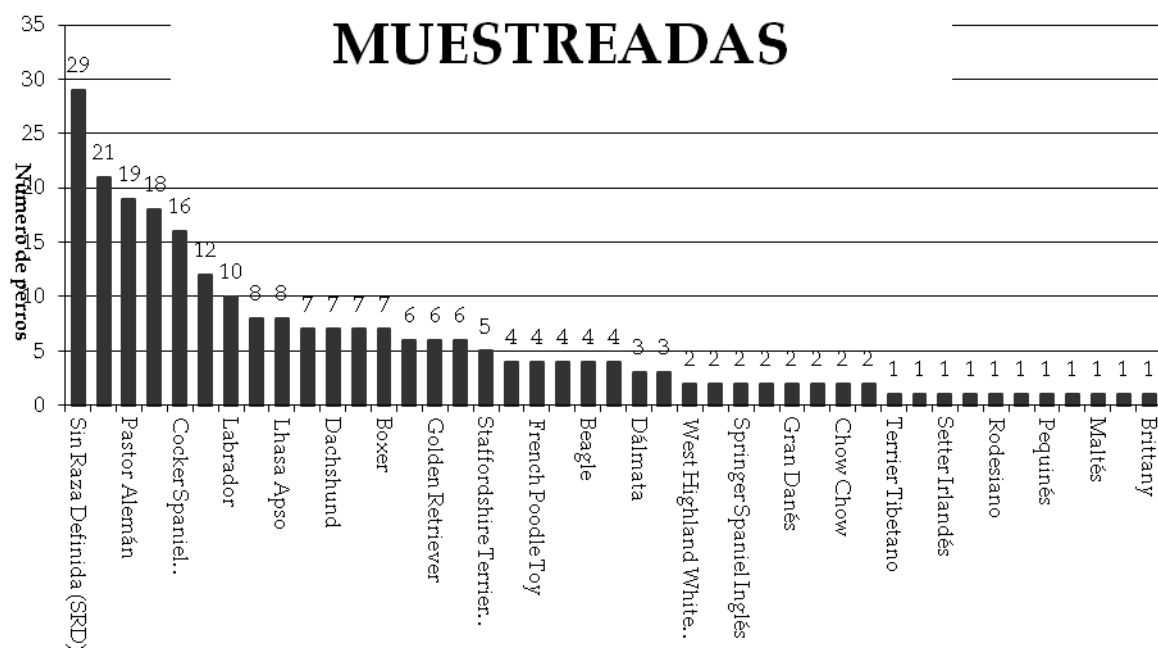
*Citado por Kirk, (1995) de Johnson y Walker, (1992); Clinical signs y diagnosis of *Brucella canis* infection. Compend Cont Educ 14:767.

+Los hemocultivos son positivos de manera intermitente 30 semanas después de la infección.

CUADRO 5			
o.	Perros con Síntomas	Can tidad	Porcentaje
	Sí tienen síntomas	30	12.24 %
	No tiene síntomas	215	87.76 %
	Total	245	100.00 %

GRÁFICA 1

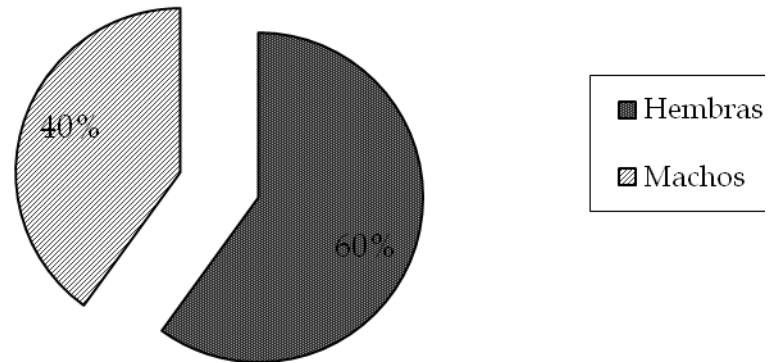
DISTRIBUCIÓN DE RAZAS MUESTREADAS



o.	Raza	Canti dad	Porce ntaje
	Sin Raza Definida (SRD)	29	11.84%
	Schnauzer	21	8.57%
	Pastor Alemán	19	7.76%
	French Poodle Miniatura	18	7.35%
	Cocker Spaniel Americano	16	6.53%
	Rottweiler	12	4.90%
	Labrador	10	4.08%
	Weimaraner	8	3.27%
	Lhasa Apso	8	3.27%
0	Siberian Husky	7	2.86%
1	Dachshund	7	2.86%
2	Chihuahua	7	2.86%
3	Boxer	7	2.86%
4	Shih Tzu	6	2.45%
5	Golden Retriever	6	2.45%
6	Bulldog	6	2.45%
7	Staffordshire Terrier Americano	5	2.04%
8	Scottish Terrier	4	1.63%
9	French Poodle Toy	4	1.63%
0	Cocker Spaniel Americano Particolor	4	1.63%
1	Beagle	4	1.63%
2	Akita Inu	4	1.63%
3	Dálmata	3	1.22%
4	Afgano	3	1.22%
5	West Highland White Terrier	2	0.82%
6	Viejo Pastor Inglés	2	0.82%
7	Springer Spaniel Inglés	2	0.82%
8	Pinscher	2	0.82%
9	Gran Danés	2	0.82%
0	Doberman	2	0.82%
1	Chow Chow	2	0.82%
2	Basset Hound	2	0.82%
3	Terrier Tibetano	1	0.41%
4	Shar Pei	1	0.41%
5	Setter Irlandés	1	0.41%
6	San Bernardo	1	0.41%

7	Rodesiano	1	0.41%
8	Pitt Bull	1	0.41%
9	Pequinés	1	0.41%
0	Pastor de Briard	1	0.41%
1	Maltés	1	0.41%
2	Dogo Americano	1	0.41%
3	Brittany	1	0.41%
	Total	245	100.00%

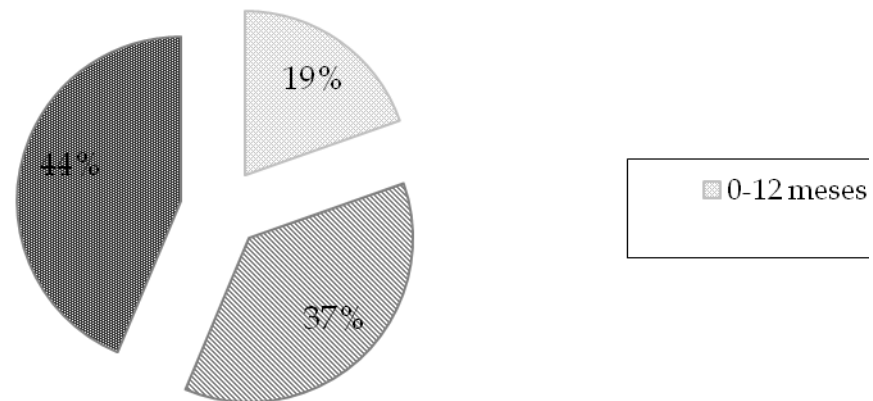
GRÁFICA 2 DISTRIBUCIÓN POR SEXOS MUESTREADOS



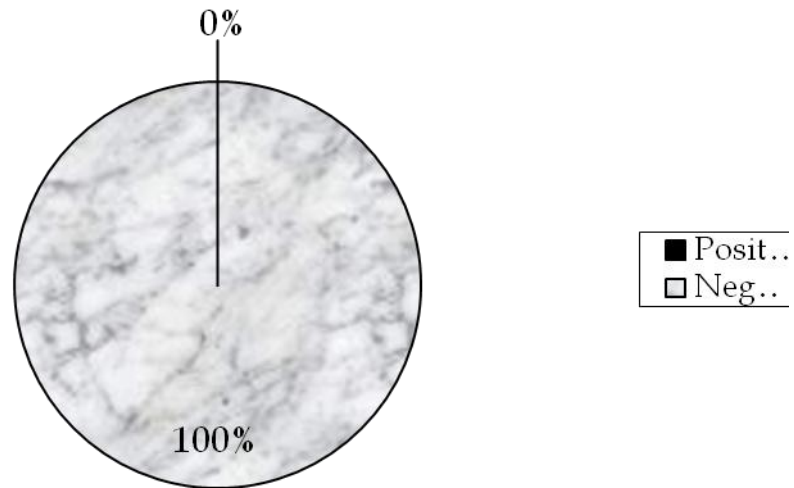
CUADRO 2			
o.	Sexo	Canti dad	Porcen taje
	Hem bras	147	60.00%
	Mach os	98	40.00%
	Total	245	100.00%

CUADRO 3			
o.	Edad	Can tidad	Porce ntaje
	0-12 meses	48	19.59 %
	12 meses 1 día a 3 años	90	36.73 %
	Mayores de 3 años	107	43.67 %
	Total	245	100.00 %

GRÁFICA 3 DISTRIBUCIÓN POR EDADES MUESTREADAS



GRÁFICA 4 DISTRIBUCIÓN GENERAL DE RESULTADOS



CUADRO 4			
o.	Resultado	Cantidad	Porcentaje
	Positivos	0	0.00%
	Negativos	245	100.00%
	Total	245	100.00%

GRÁFICA 5
DISTRIBUCIÓN DE PERROS
MUESTREADOS QUE
PRESENTAN SÍNTOMAS
RELACIONADOS CON LA
ENFERMEDAD, PERO A LA...



CUADRO 5			
o.	Perros con Síntomas	Can-tidad	Porce-ntaje
	Sí tienen síntomas	30	12.24 %
	No tiene síntomas	215	87.76 %
	Total	245	100.00 %

Br. M. Evelyn Gutiérrez B.

Dra. Blanca de Romillo
Asesor Principal

Dr. Alfredo Viau
Asesor

Dra. Grizelda Arizandieta
Asesor

Imprimase : _____

Dr. Mario Llerena Quan
Decano