



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA FRECUENCIA
DE Brucella canis EN PERROS, EN EL AREA
METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE
MEXICO"**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A:
RICARDO ANTONIO VELAZQUEZ SILVA

ASESORES:

M. V. Z. CARLOS MANUEL APPENDINI TAZZER
M. V. Z. EFREN DIAZ APARICIO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Estudio descriptivo de la frecuencia de Baccalaureus en México
en el Área Petrolera de la Ciudad de México.

que presenta el Pasante: Velázquez Silva Ricardo Antonio
con número de cuenta: 37066903 para obtener el TÍTULO de:
Médico Veterinario Postgraduado.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI FAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán local, Dgo. de Méx., a 28 de octubre de 1997.

PRESIDENTE	<u>M. V. Z. Carlos Manuel Abendaño Tizapa</u>	
VOCAL	<u>M. V. Z. Sergio Cortés y Huerta</u>	
SECRETARIO	<u>M. V. Z. Gilberto Ochoa Huete</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dr. Jorge Tórtora Pérez</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M. en C. Francisco Morales Álvarez</u>	

DEDICATORIAS.

*A mis padres : Por su apoyo, cariño y comprensión,
les ofrezco esta tesis como un pequeño
tributo a todo lo que les debo.*

*A mis hermanos : Les ofrezco el resultado del
ejemplo que son para mí.*

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres :

Gracias... lo único que acierto a decir es gracias, por todo el apoyo que me han brindado en el transcurso de mi vida, por toda la ayuda recibida, ya que han hecho más ligero mi camino ; por las palabras de aliento escuchadas en los momentos más difíciles, por todas las cosas... por la vida misma y ahora que hago realidad uno de mis más grandes sueños quiero agradecer todo el amor, paciencia y comprensión para conmigo, por todo eso y mucho más...

GRACIAS

A mis hermanos :

Porque gracias a su apoyo y consejo, por el ejemplo que representan para mí, he llegado a cumplir este objetivo. Con admiración y respeto.

GRACIAS

A Dios :

Por haberme dado la familia a la que perteneces, por permitirme conseguir esta meta y por haberme dado la vida.

GRACIAS

A mis asesores :

Dr Efraim Díaz Aparicio, MVZ Carlos Manuel Appendini Tazzer y al MVZ Benito López Baños por su apoyo y cooperación.

GRACIAS

A mis amigos :

Por todos los momentos vividos en la Facultad, que forman parte de mi formación académica y personal.

GRACIAS

A la Universidad Nacional Autónoma de México :

Por abrirme los brazos incondicionalmente en su Máxima Casa de Estudios.

GRACIAS

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán :

Por permitir mi desarrollo académico.

GRACIAS

A todas aquellas personas que de alguna u otra forma estuvieron ligadas a la realización de este trabajo y que por razones obvias no aparecen en estas líneas.

GRACIAS

En especial a aquella persona que me ayudó en mi superación personal e intelectual, y a darle a la vida otro enfoque, con cariño y respeto

GRACIAS EMILIA

INDICE

	PAGINA
RESUMEN.....	5
INTRODUCCION.....	6
OBJETIVO.....	18
MATERIALES Y METODOS.....	19
RESULTADOS.....	22
DISCUSION.....	26
CONCLUSIONES.....	28
LITERATURA CITADA.....	29

RESUMEN.

El presente trabajo muestra la frecuencia de la Brucelosis en el área metropolitana de la ciudad de México en el período comprendido entre los meses de septiembre a diciembre de 1996. Fue realizado en el laboratorio de bacteriología del INIFAP-SAGAR, con muestras que se obtuvieron en clínicas veterinarias de la ciudad de México, de perros sospechosos, con signología de la enfermedad (orquitis, epididimitis y abortos, principalmente), y que tenían dueño.

La técnica utilizada fue la Prueba en Tarjeta con antígeno de *Brucella canis*.

Los resultados obtenidos en la investigación muestran un alto índice de perros que presentan la enfermedad (94 de los 207 casos remitidos, es decir el 45.4%), en forma aguda o crónica, y con signología. También permitió confirmar que la edad en la cual se presenta mayormente la enfermedad es en perros adultos con posible actividad sexual alta (a los 2.7 años). Respecto a la distribución por sexo se encontró 56.3% reactivos en los machos y 43.7% en las hembras.

También se confirmó que existe el problema en forma elevada en los perros que tienen un hogar, debido al descuido que tienen algunos dueños para el cruzamiento de sus mascotas, debido a la falta de orientación por parte de los Médicos Veterinarios Zootecnistas, principales responsables de proporcionar información a sus clientes, y de concientizarlos de que es un problema que termina con la vida reproductiva de sus mascotas y, sobre todo, del contagio que pueden sufrir los miembros de la familia con los subsecuentes problemas de la enfermedad. Se sugiere solicitar un diagnóstico de *Brucella* antes de realizar cualquier cruce, para evitar el contagio de la enfermedad y los subsecuentes problemas clínicos.

INTRODUCCION.

La Brucelosis es una enfermedad infecciosa, contagiosa, bacteriana de curso agudo y crónico, producida por diversas especies del género *Brucella* que afecta a animales domésticos, silvestres y al hombre (22, 30, 47, 56)

El agente etiológico está clasificado dentro del orden de las Enterobacteráceas, familia Halobacteráceas, género *Brucella* y especie *Brucella canis* (1, 5).

El microorganismo es un cocobacilo de 0.4-1.5 micras de longitud, Gram negativo y sin agrupación definida (1, 9) Morfológicamente es indistinguible de otras brucellas, es aerobia y se inhibe en presencia de CO₂, no forma esporas, requiere de 48 a 72 horas para crecer en medios enriquecidos como agar sangre (5% de sangre de ovino), y tripticasa soya agar. Después de varios días de incubación, las colonias translúcidas son de 1-1.5 mm de diámetro (1, 3, 4, 5)

Bioquímicamente, *B. canis* es fuerte productor de ureasa (9, 43), no produce H₂S, es débilmente productor de oxidasa y reductor de nitratos. El eritritol es metabolizado débilmente por oxidación y no es lisado por el fago Tibilis (21).

Los sueros monoespecíficos frente a *Brucella abortus* (A) y *Brucella melitensis* (B) aglutinan a las tres especies lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*) y se utilizan para ayudar a distinguir sus biovariantes. El suero antirrugoso (R) aglutina a las dos especies rugosas (*B. canis* y *B. ovis*) (51).

Las especies lisas de *Brucella* portan antígenos de superficie A y M y reaccionan serológicamente, sin embargo, la proporción relativa de cada antígeno varía de una especie o biovariante a otra (51).

La Brucelosis se identificó desde el año 400 A.C., en Grecia; en 1751, Cleghorn describe claramente la presentación clínica de la enfermedad; posteriormente en 1887 Bruce logra el aislamiento del microorganismo a partir de humanos enfermos de Fiebre de Malta, y se le designa con el nombre de *Micrococcus melitensis* (22, 39). Diez años después en Dinamarca, Bang aisla por primera vez *Brucella abortus* a partir de fetos de vacas abortadas (enfermedad de Bang) (22, 26). En 1974, Traum aisla *Brucella suis* de un feto porcino abortado (22). Alice Evans, después de haber realizado estudios en 1918 da a conocer la relación existente entre *B. melitensis* y *B. abortus* al observar que eran bastante similares en su morfología y en las reacciones de cultivo. El trabajo de Evans fue confirmado por Meyer y Shaw en 1920 y se sugirió que debían unirse en un sólo grupo recibiendo el nombre de *Brucella* en honor a Bruce quien descubriera el primer miembro de este género (22, 26, 39).

En 1966 Carmichael y colaboradores (6, 8, 9), aislaron por primera vez un cocobacilo Gram negativo obtenido de tejidos fetales y placentarios de perros, de un criadero de raza Beagle.

Actualmente la enfermedad se ha reportado en varios países de América, Europa, África y Asia (18). *B. canis* ha sido diagnosticada en Japón, China, Perú, Alemania, Brasil, Túnez, Turquía, Checoslovaquia, Madagascar, Argentina y México (países donde se permite el deambular de perros) (15, 25, 52, 56).

En 1987, Germano y colaboradores en la ciudad de Campinas, Brasil, utilizando la prueba rápida en placa con 2-Mercaptoetanol, encontraron que de 352 muestras de perros, el 5.4%

fueron seropositivos a *B. canis* sin encontrar diferencias significativas entre la frecuencia de positividad entre machos y hembras, con relación a la edad encontró que los animales seropositivos tenían de 1.5 a 4.5 años de edad, correspondiendo al periodo de mayor actividad sexual de esta especie (25). En el mismo año Diker en Ankara, Turquía, reporta de un total de 222 muestras una positividad del 6.3% (15). En 1988 en China, Tian reporta de un total de 245 perros que 8 (3.3%) fueron positivos a *B. canis* (58).

En 1991 Katami, en Japón, obtuvo el 1.9 % de seropositividad de 259 sueros obtenidos de perros capturados en la ciudad, con títulos de 1: 160 o más, aislando al microorganismo en sólo un caso, con título de 1:640 (34). Srinivasan encontró en la ciudad de Madras que de 460 sueros, 9(1.96%) tenían anticuerpos contra *Brucella canis*, con títulos de 1:200(53).

Los primeros estudios que reportan la infección por *B. canis* en México fueron publicados por Flores en 1975 (16), el cual no menciona algún otro agente bacteriano como causa de abortos y epididimitis en perros (20); menciona que de un total de 500 muestras de perros callejeros, el 28% es seropositivo y aisló *B. canis* en 8 casos (19). En 1980 Gutiérrez, en el Distrito Federal trabajó un total de 107 sueros de perros, encontrando una seropositividad del 11.21% a la prueba de aglutinación en placa, y un aislamiento del 1.07% (31).

En 1983 González en el Valle de México hace mención que de un total de 78 animales, 7 resultaron seropositivos (8.9%), logrando el aislamiento en 3 casos (3.8%) (29). En 1985 Alonso, demuestra en Monterrey 15% de seropositividad de un total de 100 perros muestreados, así como el 3% de frecuencia al aislamiento bacteriológico (2). En 1992 Ruiz, publica en el Valle de Toluca un 9% de seropositividad a *B. canis* de un total de 100 muestras (48). En 1992 Nava Vázquez trabajó un total de 500 muestras serológicas de perros obtenidas durante los meses

marzo-agosto en el centro antirrábico "El Molinito", Municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México, con Prueba de Tarjeta, de las cuales el 17.4% (87/500) fueron positivos a *B. canis* (44). También en ese mismo año Vázquez y Mancera lograron elaborar un antígeno celular específico con la finalidad de diagnosticar la Brucelosis causada por *B. canis* por pruebas serológicas, tanto en el perro como en el humano. Analizaron 181 sueros de perros machos y 164 de hembras, encontrando una seropositividad de 19.9% para los machos y un 15.8% para las hembras; en total de los 345 sueros de perros estudiados, se encontró que el 18% reaccionaron positivamente a la prueba de seroaglutinación en tarjeta (59 y 60). También en 1992, Muñoz y Carreón en la ciudad de Chihuahua analizaron 100 sueros de perros encontrando solamente cinco reacciones positivas (43). En 1997 González encontró en la ciudad de Córdoba, Veracruz que el 7.11 % de 225 perros muestreados aglutinaron en la Prueba de Tarjeta (28).

La enfermedad afecta a todas las razas de perros en forma natural, los rumiantes y el cerdo son resistentes, los gatos son moderadamente susceptibles con desarrollo de bacteremia (45), los animales de laboratorio son susceptibles con un curso benigno a excepción del conejo que desarrolla orquitis y abscesos peritoneales después de la inoculación de grandes dosis (1×10^9) por vía intraperitoneal, los primates no humanos también son susceptibles, en los carnívoros y otros animales silvestres sólo se han detectado niveles bajos de anticuerpos, en linces, coyotes y zorras rojas (45).

La enfermedad es más frecuente en los perros callejeros y en lugares con sobrepoblación y movimiento constante de animales. Se puede presentar zoonosis, es decir, el humano se puede contagiar al convivir con animales infectados (45).

La transmisión de la bacteria puede ser de tipo vertical (por ejemplo: transplacentaria, en forma congénita o durante la lactancia), y horizontal (por ejemplo: contacto directo, por medio de secreciones vaginales, seminales, orina y fomites, por vía oral principalmente; y por transmisión sexual) (10). El humano es menos común que se infecte con *B. canis*, sin embargo llega a hacerlo por accidentes de laboratorio, o en contacto con animales infectados a través de la mucosa conjuntival, oral, tracto genital y por zoofilia (22, 52).

Las gestantes abortan en el último tercio de la gestación, la perla puede comerse los fetos y no dejar rastros, puede detectarse sólo una pequeña descarga vaginal, serosanguinolenta o purulenta donde se puede encontrar una gran cantidad de microorganismos, persistiendo de 4 a 6 semanas post-aborto, dichas descargas pueden ser ingeridas por otros animales que conviven con ella. Los machos adultos padecen la enfermedad clínica y pueden transmitir la enfermedad después de 4 a 6 meses del contacto con portadores sanos o con enfermos (24,32). En los machos infectados, la orina y el semen son fuentes de infección, los cuales pueden permanecer infectantes por 2 a 5 meses o más tiempo, si el microorganismo se mantiene en riñón y próstata, las bacterias se excretan en forma intermitente (11, 16, 19, 22, 31, 33).

Tanto en hembras como en machos se menciona que puede existir eliminación por heces y saliva, pero esto no se considera una fuente de infección común, ya que la cantidad de bacterias/ml es muy baja (11).

Los perros asintomáticos son una importante fuente de infección, que puede persistir hasta por 5,5 años (10).

Cuando la *Brucella* entra en el huésped, se presenta una bacteremia por dos días, diseminándose por todo el cuerpo, alojándose en los nódulos linfáticos, bazo, útero, glándula mamaria, hígado, testículo, próstata, vesículas seminales y médula ósea (11, 19, 31, 32).

La Brucelosis Canina es una enfermedad prácticamente asintomática en hembras no grávidas, en este caso el único signo es el agrandamiento de los nódulos linfáticos y en el caso de las gestantes se producirá el aborto principalmente en las últimas semanas de gestación (entre los días 40 y 50), seguido de descargas vaginales prolongadas, las cuales varían de color desde café-amarillo hasta gris-amarillo o "café sucio", siendo viscosas y mucosas, y de olor fétido (10). No hay respuesta febril debido a la poca cantidad de endotoxinas de *B. canis* que se liberan (10).

A los perros infectados por la vía oral o nasal se les agrandan los nódulos linfáticos retrofaringeos uni o bilateralmente. Las perras infectadas por vía vaginal tienen aumentados de tamaño los nódulos inguinales superficiales y los iliacos externos, los cuales se pueden palpar muy bien después de 2 semanas de la infección. Conforme la enfermedad avanza el tamaño y la consistencia de los nódulos mencionados variarán en diferente grado. Las hembras infectadas que no quedan gestantes a pesar de una monta exitosa se debe a una muerte temprana de los embriones con reabsorción posterior (31).

En la gestante afecta el epitelio de la mucosa uterina, de las vellosidades placentarias y del córion, causando degeneración y necrosis, y posteriormente un proceso exudativo y proliferativo, lo cual puede causar retención placentaria y esterilidad, sin embargo este último problema no es muy frecuente (31).

Los signos más comunes y frecuentes en los machos son epididimitis uni o bilateral, prostatitis, atrofia de uno o ambos testículos, edema y dermatitis escrotal. De los signos

mencionados los más relacionados con la Prueba de Aglutinación en Placa (PAP) y de Aglutinación en Tubo (PAT), son orquitis y epididimitis. Otros signos en machos infectados con *Brucella canis* que no siempre se relacionan con seropositividad con las pruebas de aglutinación son: infertilidad, azoospermia, atrofia testicular, descargas prepuciales, hematuria y prostatitis (31). En lo que se refiere a signos no reproductivos relacionados a seropositividad, la uveítis, discopondilitis, osteomielitis, meningitis, glomerulonefritis y dermatitis piogranulomatosa son los más evidentes (31, 32).

Los cachorros que se infectaron en el útero, pero que pudieron nacer vivos, desarrollan una linfadenitis como único signo de la enfermedad, son seropositivos con la PAT y PAP, y generalmente no llegan a la etapa adulta (31, 32).

La Brucelosis Canina en el macho es una enfermedad insidiosa, los signos clínicos y las radiografías no son suficientes para establecer un diagnóstico definitivo (17, 18, 50).

La orquitis es un hallazgo en machos infectados, sin embargo la hiperemia y la inflamación del escroto así como epidídimos agrandados son observados con mayor frecuencia, la cola del epidídimo es la parte más afectada, hay infiltración de monocitos en próstata y epidídimo. Los nódulos linfáticos más afectados en animales adultos son los retrofaríngeos y mandibulares (31).

En casos crónicos, se puede presentar osteomielitis y granulomas, localizados en hígado, riñón, bazo, corazón y aorta abdominal; también puede existir discopondilitis, es decir, una infección del disco intervertebral con consecuente osteomielitis de la vértebra adyacente (35). Los perros afectados presentan signos vagos de dolor, con rechazo a moverse, posteriormente este signo se exagera por el ejercicio, los signos son similares a displasia de cadera; otros son:

hiperestesia, laminitis, anorexia, pirexia y disfunción neurológica variable (27, 50). Los discos más afectados son el torácico medio, cervical caudal y lumbosacro (27). Las lesiones están clasificadas como: activa, la cual es una continuación o incremento de la destrucción interna del cuerpo vertebral y un colapso del espacio discoidal involucrado con o sin interrupción incrementada de la producción de hueso nuevo; estática, se presenta con leves o sin cambios aparentes; o resuelta, mostrando lisis interna del cuerpo vertebral, fusión de los cuerpos vertebrales contiguos y marginación de la formación de hueso nuevo. El agente etiológico puede ser aislado del disco intervertebral afectado y a partir de sangre (31, 35). También en la fase crónica se puede presentar atrofia testicular (32).

Las lesiones más comunes cuando está involucrado el sistema ocular son iridociclitis no granulomatosa, infiltración difusa de células plasmáticas en las arterias del iris, con aumento del tamaño de los nódulos linfáticos regionales (49). En casos raros y crónicos se puede encontrar dermatitis piogranulomatosa (13, 14). La osteomielitis es un hallazgo raro (31).

En un hemograma se puede encontrar leucocitosis pronunciada en la fase aguda de la infección (primeras 3-4 semanas); neutropenia relativa inicial, que posteriormente se vuelve absoluta; monocitosis absoluta (62). También en la fase aguda se puede encontrar actividad fagocítica de neutrófilos, además de la activación del complemento (63).

Existen varios procedimientos de laboratorio para diagnosticar la enfermedad, el método concluyente es el aislamiento bacteriológico de *B. canis*, a partir de hemocultivos y de tejidos afectados, se recomienda utilizar el medio doble de Ruiz-Castañeda (12)

El diagnóstico serológico basado en la respuesta humoral, goza de mayor importancia por su sensibilidad, especificidad y rápida realización, además de que son pocos los métodos o antígenos estandarizados para *Brucella canis* y pueden dar resultados falsos positivos (32, 36).

Aunque el aislamiento del germen puede resultar concluyente en la infección aguda, en los casos crónicos la persistencia en sangre es muy discreta y la detección de portadores puede resultar infructuosa mediante éstas técnicas. Los resultados negativos en un cultivo bacteriano para *B. canis* pueden atribuirse a una bacteremia intermitente con bajo número de organismos circulantes (50). En machos infectados crónicamente, los resultados del cultivo bacteriano de tejido testicular suelen ser negativos porque la localización de la infección está en próstata (50). Por el contrario, la seropositividad perdura durante varios meses después del cese de la bacteremia (hasta dos años en algunos casos), debido a una fuerte estimulación linfocitaria y a la elevada producción de beta y gama globulina (59). Los métodos serológicos incluyen: Prueba Simple en Placa, Prueba de Tarjeta, Aglutinación Lenta en Tubo, 2-Mercaptoetanol, Prueba de Fijación del Complemento, Inmunodifusión en Gel y ELISA (3).

Un resultado negativo en la Prueba de Tarjeta usualmente (en más del 90% de los casos) elimina a *Brucella canis* como posible causa de infertilidad (23).

La prueba en Placa con 2-Mercaptoetanol goza de mayor prestigio por ser sencilla, rápida y específica, además de observarse a los positivos a las cuatro semanas postinfección (37, 41).

En el caso de discopondilitis, la prueba de elección es la de Aglutinación en Tubo para *B. canis*, pero su incidencia es baja (27).

La Prueba de ELISA es confiable de un 80 a un 100% de los casos, en perros de 5 a 7 días postinfección, es la más sensible de todas, pero debido a su alto valor comercial y a que se tiene que realizar en laboratorio, es menos solicitada (54).

Existe eficacia en el tratamiento utilizando tetraciclinas, aminoglicósidos, fluoroquinolonas, rifampin, macrólidos, y sus combinaciones (38, 44).

También los derivados de las quinolonas (ciprofloxacina y enrofloxacin) proporcionan excelentes resultados (35).

Las combinaciones de tetraciclinas-aminoglicósidos, enrofloxacin-aminoglicósidos y doxiciclina-estreptomicina, muestran buen sinergismo, pero doxiciclina-rifampina son antagonistas para *Brucella canis* (38).

El tratamiento puede ser exitoso cuando se inicia en los primeros días de la enfermedad y con malos resultados cuando el perro presenta la forma crónica. El tratamiento es una alternativa a la eutanasia en perros con mucha estima, pero es necesaria la castración para evitar que las brucelas se sigan replicando en los testículos y epidídimos, y sean fuente de infección para otros órganos del individuo (35, 44, 47).

La prevención en criaderos incluye un plan de monitoreo constante, medidas de higiene y cuidados del animal. Se deben hacer pruebas serológicas de tarjeta a los sueros de los animales que sean introducidos al criadero al menos con intervalos de dos veces al mes (al entrar al criadero y a los 15 o 20 días después, debido al período de incubación). A las hembras del criadero también se les deben realizar pruebas de tarjeta varias semanas antes de la fecha esperada del estro. No se deben introducir nuevos animales al criadero hasta que hayan demostrado ser

negativos por lo menos a dos pruebas hechas un mes atrás. Las pruebas en todos los animales del criadero se deben hacer anualmente y también cuando los problemas reproductivos aparezcan como abortos o fallas a la concepción. En abortos de perras, la Brucelosis se debe considerar hasta que se demuestre lo contrario. Si se encuentra un perro infectado debe ser sacado del criadero y evitar el contacto con humanos u otros animales (7). Debido a que las principales rutas de diseminación son por descargas vaginales después del aborto o en la época de estro en el momento de la monta con perros infectados, se sugiere que todas las personas que estuvieron en contacto con perros sospechosos o infectados, se deben desinfectar concienzudamente las manos y los lugares donde estuvieron los perros. Los desinfectantes como los cuaternarios de amonio y los halógenos rápidamente destruyen a los microorganismos. Todos los perros que se han detectado infectados deben ser evacuados del criadero tan pronto como sea posible (7).

Se han reportado casos en humanos, básicamente en Médicos Veterinarios Zootecnistas, técnicos, personal de laboratorio y los dueños de mascotas. Aunque se puede presentar a cualquier edad, se ha reportado que existe una mayor incidencia entre los 20 y 49 años (57). La enfermedad se manifiesta por fiebre asociada con escalofríos, dolor de cabeza, pérdida de peso, náuseas y, ocasionalmente, erupción generalizada de máculas en piel. Otros signos poco frecuentes son tumefacción conjuntival, eritema faríngeo, úlceras blancas en el paladar blando, úvula y pared posterior de la faringe. Por medio de radiografías se han observado aumento de tamaño del hígado, linfadenopatía y esplenomegalia. Las evidencias serológicas compatibles con la infección pueden estar presentes con ausencia de síntomas. Se menciona que en el hombre la presencia de títulos de 1:100 se consideran como positivos. El inicio de los síntomas es insidioso o abrupto. El período de incubación en el hombre es desconocido y las lesiones patológicas en

humanos positivos al cultivo han sido poco descritas. La pérdida de peso y la linfadenopatía también han sido reportados. Todos los pacientes con infección confirmada tienen títulos de aglutinación de 1:200 o mayores, pero los títulos declinan dentro de pocas semanas después de dos a tres semanas de tratamiento con tetraciclinas (42, 46, 55, 56)

La Brucelosis canina es una enfermedad que termina con la vida reproductiva del perro, además de existir la posibilidad de ser transmitida al humano, por lo que es un problema grave en criaderos, siendo uno de los principales problemas que repercuten en la economía del mismo, ya que se manejan especímenes de registro. La alta convivencia del perro con el hombre requiere establecer un diagnóstico eficaz de la infección, por lo tanto es necesario realizar la prueba de tarjeta, con el fin de aportar elementos para la detección de la enfermedad, ya que el principal modo de infección es por las cruzas entre perros con o sin registro, diseminándose entre criaderos, o bien en la zona donde habitan los animales que tienen la enfermedad. Son escasos los estudios de prevalencia de la enfermedad en animales con un hogar, ya que la mayoría de los estudios referidos, como se dijo anteriormente, se han realizado en perros callejeros, radicando en esto la importancia del presente estudio.

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de perros seropositivos a *Brucella canis* en casos sospechosos de la enfermedad, en el área metropolitana de la ciudad de México.

MATERIAL Y METODOS.

Obtención de muestras.

Las muestras fueron obtenidas por el laboratorio Diagnóstico de Salud Animal (DIAGSA), en un total de 207, en el área metropolitana de la ciudad de México. El volumen de cada muestra fue de 3 ml de sangre. Posteriormente se remitieron al INIFAP-SAGAR, donde se realizó el diagnóstico (prueba de tarjeta).

Se trabajó con perros de diferentes razas, mismas que se mencionan a continuación:

Pastor Alemán, Bull-Dog Inglés, Bull- Terrier, Gran Danés, Mastín Napolitano, Labrador, Beagle, Pekinés, Maltés, Rottweiler, Boston Terrier, Greyhound, Basset Hound, Teckel, Samoyedo, Siberian Husky, Mastín Español, Pastor Belga Mallinois, Setter Inglés, Viejo Pastor Inglés, Weimaranner, Alaska Malamute, Chihuahua, Bull-Dog Francés, Yorkshire Terrier, Shar Pei, Chow-Chow, Blood Hound, Collie, Gigante de los pirineos, Dogo Argentino, Poodle y Dogo de Burdeos, así como de animales criollos.

Cabe hacer notar que los animales utilizados en el estudio fueron escogidos conforme presentaban problemas reproductivos, o bien si eran sospechosos de Brucelosis, además de que todos provenían de una condición de cohabitación con familias (no eran animales callejeros).

Preparación de antígenos con células completas.

Se preparó un cultivo de *Brucella canis* con una cepa de referencia en botellas Roux con un medio enriquecido para las brucelas (agar *Brucella*, con soya tripticasa), dejándose incubar durante 48 horas a 36°C. Las bacterias se cosecharon con solución salina fisiológica y se inactivaron en baño maría a 90°C durante 60 minutos. La suspensión se lavó por medio de centrifugación y el paquete celular se resuspendió en 500 ml de solución salina al 0.8% y se tiñó con 3 ml de rosa de bengala al 1%, manteniéndose dos horas en agitación magnética, después las células se lavaron dos veces con solución salina y se centrifugaron para eliminar el exceso de colorante. La pastilla antigénica se suspendió en 100 ml de solución amortiguada de carbonato-bicarbonato (pH de 8.9), y por último, se midió la concentración celular al 8% en un electrofotómetro a una densidad óptica de 460 nm. El antígeno se tituló a diferentes diluciones con sueros hiperinmunes obtenidos de conejos inmunizados con *Brucella canis* cepa ATCC-RM666, así como sueros de perros seropositivos con aislamiento bacteriológico de *Brucella canis* (60).

Prueba de tarjeta.

Prueba directa de aglutinación con antígeno de *Brucella canis* (Prueba de Tarjeta).

La prueba se realiza sobre una placa de vidrio cuadrículada, depositando en cada cuadro 30 microlitros de suero problema y en seguida se agrega el mismo volumen de antígeno, se homogeneiza la mezcla perfectamente con una aguja de acero inoxidable, manteniendo la placa en

movimiento giratorio durante cuatro minutos. La lectura se realiza sobre un transiluminador, considerando reacción positiva cuando hay presencia de aglutinación (60).

Cabe hacer notar que pueden existir reacciones cruzadas con otras bacterias de la misma familia como las *Salmonellas*, produciendo resultados falsos positivos.

ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados obtenidos para edad fueron analizados mediante pruebas de hipótesis de proporción utilizando el paquete estadístico "MICROSTAT".

RESULTADOS

El estudio realizado nos mostró que de las 207 muestras serológicas evaluadas se obtuvieron 94 positivos y 113 negativos, es decir, el 45.4 % del total.

De las razas de perros y una mezcla de razas (criollos), se encontró que la raza más afectada fue la Beagle (16 positivos de 20). Los resultados en detalle se presentan en el cuadro 1.

CUADRO 1. Razas de perros que mostraron seropositividad a la Prueba de Tarjeta de *Brucella canis*.

RAZA	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD RELATIVO	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD ABSOLUTO
Beagle	16	04	20	80.00 %	7.72 %
Pastor Alemán	11	05	16	68.75 %	5.26 %
Criollo *	11	25	36	30.55 %	5.26 %
Bull Terrier	07	04	11	63.63 %	3.38 %
Rottweiler	06	07	13	46.15 %	2.89 %
Pastor Belga d	05	05	10	50.00 %	2.41 %
Mallinois					
Otros	38	63	101	37.62 %	18.45 %

*Mezcla de 2 ó más razas

El número de machos positivos (53) a *Brucella canis* fue mayor que el de hembras, sin embargo las pruebas estadísticas señalan que no existió diferencia alguna entre ambos sexos, esto es, 50 % para cada uno (Cuadro 2).

CUADRO 2. Relación entre el resultado de la prueba de tarjeta para *Brucella canis* y el sexo de los 207 perros.

SEXO	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
machos	53 ^a (49)	55 ^a (59)	108
hembras	41 ^a (45)	58 ^a (54)	99
total	94	113	207

Letras iguales por columna o renglón denotan que no hay diferencia significativa ($P > 0.05$).

La edad promedio fue de 2.7 años, edad en la cual se considera una mayor actividad sexual, tomando rangos de 1 hasta 6 años (edad de los más jóvenes contra los más viejos, ver cuadro 4).

CUADRO 3. Distribución por edades de los 207 perros analizados en el estudio de Brucelosis.

EDAD	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Hasta 1 año	20	39	59
De 1 a 3 años	53	58	111
De 3 a 6 años	21	16	37
TOTAL	94	113	207

El cuadro 4 nos muestra los trabajos elaborados por autores nacionales y los resultados del presente trabajo.

CUADRO 4. *Brucella canis* EN PERROS, COMPARACION DE AUTORES NACIONALES

AUTOR	AÑO	LUGAR *	TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVIDAD (%)	AISLAMIENTO
Flores	1975	I	500	28	8 casos
Gutiérrez	1980	II	107	11.21	-----
González	1983	III	78	8.9	3 casos
Alonso	1985	IV	100	15	3 casos
Ruiz	1992	V	100	9	-----
Nava	1992	VI	500	17.4	-----
Vázquez	1992	I	345	18	-----
Velázquez	1997	III	207	45.4	4 casos

* I México (todo el país)

II Distrito Federal

III Valle de México ó Area Metropolitana de la Ciudad de México

IV Monterrey

V Valle de Toluca

VI Naucalpan de Juárez, Estado de México.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que existe un alto índice de perros sospechosos o con problemas de *Brucella canis* en la zona metropolitana de la ciudad de México, a comparación de los años anteriores, donde Flores en 1975 (16) reporta un total de 140 casos positivos de un total de 500 muestras (el 28 %), y el aislamiento en 8 casos en todo el país, ó Gutiérrez que en 1980 trabajando con 107 perros del Distrito Federal encontró 11.21 % de reactores, utilizando la Prueba en Tarjeta; ó del mismo González, el cual también realizó un estudio en el Valle de México ó Area Metropolitana de la Ciudad de México, en el que hace mención en 1983 que de un total de 78 muestras la obtención de positividad en el 8.9 % de los casos y el aislamiento en 3 pacientes (28). En el presente estudio se obtuvo el 45.4% de positivos, pero hay que hacer notar que los perros fueron escogidos conforme presentaban problemas reproductivos, sospechosos de Brucelosis, ó para seleccionarlos como reproductores, por lo que el muestreo difiere de otros autores, ya que se realizó un muestreo dirigido, al trabajar sólo con sospechosos.

A nivel nacional, la comparación de los resultados de este trabajo con datos de otros autores, muestran una diferencia notable en el número de reactores positivos, debido a las diferentes condiciones de muestreo. También se debe hacer notar que los demás autores trabajaron solamente con perros callejeros

Con lo anterior se puede afirmar que la enfermedad sobrepasa los límites de las calles, ya que todos los pacientes con los que se trabajó tenían dueño o pertenecían a alguna familia,

demostrando que no sólo pueden contagiarse los perros callejeros, si no también los perros con un hogar. Lo que es peor aún, es que es un problema de salud pública, es decir, pueden contagiarse las personas u otros perros que conviven con el enfermo.

Se trabajaron 33 razas de perros y animales criollos, de los cuales se obtuvo un alto porcentaje por parte de la raza Beagle (7.7%), debido, tal vez, a que las muestras fueron remitidas por un criadero de la raza mencionada.

En cuanto al sexo, no existió diferencia significativa, ya que las pruebas estadísticas establecieron un porcentaje equilibrado, es decir, 50% para cada sexo.

Como puede observarse el problema sigue presente, tal vez por falta de información de las personas, pero también del mismo Médico Veterinario, quien es el principal responsable de hacerle mención a sus clientes de que existe la enfermedad y que puede terminar con la vida reproductiva de sus mascotas.

Cabe hacer notar que es muy importante conocer tanto la enfermedad como las pruebas que se realizan, ya que hoy en día, para cualquier cruce, se sugiere solicitar un diagnóstico de *Brucella*, además de la revisión de genitales para descartar Tumor Venéreo Transmisible o más afecciones del sistema reproductor.

CONCLUSIONES

Con el presente estudio se cumplió con el objetivo trazado, ya que se encontró que el 45.4% de los 207 perros estudiados sospechosos a Brucelosis resultaron seropositivos a *Brucella canis*.

Cabe resaltar que este problema es de suma importancia, ya que es una zoonosis.

El porcentaje mayor de animales seropositivos, en comparación con los otros autores mencionados es una voz de alarma, ya que indica que a esta enfermedad no se le ha dado el trato debido en las medidas zoonosanitarias.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

LITERATURA CITADA

1. AKAO LARSON, M. H. M. and OLIVEIRA DA COSTA, E.: Isolation of *Brucella canis*. Int. J. Zoon., 7: 125-130 (1980).
2. ALONSO, M. L. y FLORES, C. R.: Presencia de *Brucella canis* en perros de Monterrey. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México, 1985.
3. ALTON, G. G., JONES, L. M. y PIETZ, D. E.: Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. 2a. de. O. M. S., Ginebra, 1976.
4. BALLOWS, A., HAUSLER W. J.: Manual of clinical microbiology. De. American Society for Microbiology. 5th edition. Washington, D. C. 1991.
5. BERGEY, D. H. HOLT, J. G.: Bergey's Manual of systematic bacteriology. Ed Williams and Wilkins. . 8th edition. Baltimore, Maryland. 1984.
6. CARMICHAEL, L. E.: Abortion in 200 Beagles. *J. A. Vet. Med. Ass.*, 149: 1126 (1966)
7. CARMICHAEL, L. E. : Canine brucellosis : An annotated review with select cautionary coments. *Theriogenology*, 6: 105-116 (1976).
8. CARMICHAEL, L. E.: Contagious abortion in Beagles. Hounds and Hunting, 64: 14-18 (1967).
9. CARMICHAEL, L. E. and BRUNER, D. W.: Characteristics of newly recognized species of *Brucella* responsible for infections canine abortion. *Cornell Vet.*, 58: 579-592 (1968).
10. CARMICHAEL, L. E. and JOUBERT, J. C.: Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. *Cornell Vet.*, 87: 69-79 (1988).

11. CARMICHAEL, L. E. and KENNEY, R. M.: Canine Brucellosis, The Clinical Disease, Pathogenesis, and Immune Response. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 156: 1726-1734, 1970.
12. CIPRIAN, C. A., MANCERA, M. A., FLORES, C. R., y RAMIREZ, P. C. : Pruebas de serodiagnóstico en brucelosis. Memorias de la Convención Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas. México, 1987.
13. DAWKINS, B. G. MATCHOTKA, S. V., SUCHMAN, D. and LAUGHLIN, R. M.: Pyogranuloma dermatitis associated with *Brucella canis* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 181: 1432-1433 (1982).
14. DE LA PEÑA, M. A. y BUTRON, G. D. H.: *Brucella canis* asociada a lesiones cutáneas en perros: Presentación de un caso . *Rev. Vet. AMWEPE*, 5: 21-29 (1991).
15. DIKER, K. S., AYDIN, N., ERDEGER, J. and OZYURT, M.: A serologic survey of dogs for *Brucella canis* and *Brucella abortus* and evaluation of mercaptoetanol microagglutination test. *Vet. Fak. Univ.*, 34: 2, 268-276, 1987.
16. FLORES, C. R.: Estudio sobre la presencia de *Brucella canis* en México. *Resúmenes de la XII Reunión Anual. Inst. Nat. de Inv. Pec., S. A. G.*, México, 1975.
17. FLORES, C. R. y CARMICHAEL, L. E.: Canine brucellosis: Current status of methods for diagnosis. *Cornell Vet.* 68: 76-88 (1978).
18. FLORES, C. R. y CARMICHAEL, L. E.: Brucelosis causada por *Brucella canis*. *Ciencia Veterinaria.*, 9: 177-197 (1981).
19. FLORES, C. R. y SEGURA, L. R.: Estudio sobre *Brucella canis* en México. *Téc. Pec. Méx.* 29: 54-58, 1975.

20. FLORES, C. R. and SEGURA, R.: A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in México. *Cornell Vet.*, 66: 347-351 (1976).
21. FORBES, L. B. and PANTEKOEK, J. F.: *Brucella canis* isolates from canadian dogs. *Can. Vet. J.* 29: 149-152 (1988).
22. FRAPPE, M. R.: Manual de Infectología Veterinaria. Enfermedades Bacterianas y Micóticas. 1a de. Francisco Méndez Oteo. México, 1980.
23. FRESHMAN, J. L., AMANN, R. P.: Clinical evaluation of infertility in dogs. *Comp. Cont. De. Pract. Vet.* 10:4, 443-460, 1988.
24. GARIN-BASTUJI, B.; COLCANAP, M.; TRAP, D.: The dogs as a potential reservoir of *Brucella* infection in attested herds, as exemplified by a case in Cotes-du-Nord. *Epidémiologie et Santé Animale*, No. 13, 69-79, Maisons Alfort, France, 1988.
25. GERMANO, P. L. M., VASCONCELLOS, S. A., ISHIZUKA, M. M., PASSOS, E. de C. and ERBOLATO, E. B.: Prevalence of *Brucella canis* infections in dogs of the city of Campinas. *Revista da Fac. Med. Vet., Univ. de Sao-Paulo, Brazil*, 24: 1, 27-34, 1987.
26. GILLESPIE, J. H. y TIMONEY, J. F.: Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. La Prensa Médica Mexicana, 4a de., México, D. F., 1983.
27. GILMORE, D. R.: Lumbosacral diskopondylitis in 21 dogs. *J. Am. Hosp. Ass.* 23:1, 57-61, 1987.
28. GONZALEZ, M. E.: Determinación de Anticuerpos contra *Brucella canis* en *canis familiaris* en la ciudad de Córdoba, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Fac. De Med. Vet. Y Zoot. Universidad Mesoamericana S. C.; Puebla, Puebla. 1997.

29. GONZALEZ, V. L.: Estudio sobre la presencia de *Brucella canis* en criaderos nacionales. Tesis de Licenciatura. Fac. de Est. Prof. Cuautitlán UNAM. México, 1983.
30. GUTIERREZ, H. R.: Contribución al estudio sobre *Brucella canis* en perros nacionales y en perros introducidos al país por la aduana del Aeropuerto Internacional de la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura. FMVZ, UNAM. México, 1980.
31. HUBBERT, N. L., BECH, N. S. and BARTA, O.: Canine brucellosis: Comparasion of clinical manifestations with serologic test results. *J. A. Vet. Med. Ass.*, 177: 168-171 (1980).
32. JOHNSON, C. A.; WALKER, R. D.: Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis* infection. *Comp. Cont. De. Am. Vet. Med. Ass.* 14:6, 763-767, 770-772, 1992.
33. JOHNSON, C. H.: Desórdenes de la gestación. *Rev. Vet. ANMVEPE*, 3:9, 1990.
34. KATAMI, M.; SATO, H.; YOSHIMURA, Y.; SUZUKI, T.; NAKANO, K.; SAITO, H.: An epidemiological survey of *Brucella canis* infection of dogs in the Towada area of Aomori prefecture (Japan). *Journal of Veterinary Medical Science.*, 53:6, 1113-1115, 1991.
35. KERWIN, S. C.; LEWIS, D. D.: Discopondylitis associated with *Brucella canis* infection in dogs: 14 cases (1980-1991). *J. Am. Vet. Med. Ass.* 201:8 1253-1257, 1992.
36. MARTIN, M.; MATEU, E. M.; GARCIA, J.; GIRONES, O.: Comparison of different methods for the serological diagnosis of canine brucellosis. *Medicina Veterinaria, Bellaterra, Spain*, 9:12, 703-708, 1992.
37. MATEU-DE-ANTONIO, E. M.; MARTIN, M.; CASAL, J.: Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6:2, 257-259, Bellaterra, Spain, 1994.

38. MATEU-DE-ANTONIO, E. M.; MARTIN, M.: In vitro efficacy of several antimicrobial combinations against *Brucella canis* and *Brucella melitensis* strains isolated from dogs. *Veterinary Microbiology*, 45:1, 1-10, Bellaterra, Spain, 1995.
39. MORILLA, G. A. y BAUTISTA, G. C. R.: Manual de Inmunología. De. Diana Técnico. Primera edición, México D. F., 52-55, 1986.
40. MOON, J. S.; PARK, Y. H.; JUNG, S. C.; KU, B. G.; JANG, G. C.; SHIN, S.; LEE, S.I.; LEE, J.M.; SHIN, S. J.: Serological tests in canine brucellosis. *RDA Journal of agricultural Science Veterinary*, 36:2, 614-621, Anyang, Korea, 1994.
41. MUNFORD, R. S., WEAVER, R. E., PATTON, C., FEELEY, J. C. and FELDMAN, R. A.: Human disease caused by *Brucella canis*. A clinical and epidemiologic study of two cases. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 231: 1267-1269 (1975).
42. MUÑOZ, C. L.; CARREON, M. J.: Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros de la ciudad de Chihuahua. Tesis de Licenciatura. Fac. De Cienc. Quím. Univ. Aut. de Chih. Chihuahua, Chihuahua, 1992.
43. MYERS, D. M. and VARELA-DIAZ, V. M.: Serological and bacterial detection of *Brucella canis* infection of stray in Moreno, Argentina. *Cornell Vet.* 70: 258-265 (1980).
44. NAVA, V. M.: Frecuencia de anticuerpos contra *Brucella canis* en perros sacrificados en el antirrábico del municipio de Naucalpan de Juárez durante marzo-agosto de 1992. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot., Univ. Auto. Edo. Méx., Toluca Estado de México, 1993.
45. PICKERILL, P. A. and CARMICHAEL, L. E.: Canine brucellosis: Control programs in comercial kennels and effect on reproduction. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 160: 1607-1615 (1972).

46. POLT, S. S.: Human brucellosis caused by *Brucella canis*: clinical features and immune response. *Ann. Intern. Med.*, 97(5): 717-719 (1982).
47. RAMIREZ, F. C.: Evaluación terapéutica de la Oxitetraciclina micronizada insoluble en perros infectados artificialmente con *Brucella canis*. Tesis de Licenciatura. FMVZ., UNAM., México, 1978.
48. RUIZ, C. M.: Brucelosis, un problema universal, De. La Prensa Médica Mexicana, México, D. F., 1954.
49. RUIZ, P. P.: Detección serológica de la infección por *Brucella canis* en el Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura. FMVZ., UAEM., Toluca Estado de México, 1992.
50. SAEGUSA, J., UEDA, K., GOTO, Y. and FUYIWARA, K.: Ocular lesions in experimental canine brucellosis. *Jap. J. Vet. Sci.*, 39: 181-185 (1977).
51. SCANLAN, M. CHARLES. Introducción a la Bacteriología Veterinaria. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España, 1988.
52. SMEAK, D. D., OLMSTEAD, M. L.: Osteomyelitis in two dogs with total hip replacements. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 191:8, 986,990, 1987.
53. SRINIVASAN, V. R.; NEDUNCHELLIYAN, S.; VENKATARAMAN, K. S.: Seroepidemiology of canine brucellosis in Madras City. *Indian Veterinary Journal*, 69, November, 978-980, 1992.
54. SRINIVASAN, V. R.; NEDUNCHELLIYAN, S.; VENKATARAMAN, K. S.: Usefulness of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in the detection of *Brucella abortus* infection in dogs. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*, 13:1/2, 58-60, Tami Nadu, India, 1992.

55. STROCZYNSKA-SIKORSKA, M.; STOJEK, N.: Brucellosis in 1987-1991 in individuals professionally exposed to infection. *Medycyna Weterynaryjna*; 49:1, 18-19, Lublin, Poland, 1993.
56. SWESON, R. M., CARMICHAEL, L. E. and CUNDY, K. P.: Human Infection with *Brucella canis*. *Annals. Int. Med.*, 76: 435-438, 1972.
57. TAYLOR, J. P.; PERDUE, J. N.: The changing epidemiology of human brucellosis in Texas, 1977-1986. *American Journal of Epidemiology*, 130:1, 160-165, Austin, Texas, 1989.
58. TIAN, Q.: Report of *Brucella canis* and *Brucella abortus* in raccon dogs. *Maopi Dongwu*, 3: 42-44, Siyang, China(1990).
59. VAZQUEZ, N. J.: Utilización de un antígeno de *Brucella canis* teñido con rosa de bengala, para diagnosticar la Brucelosis canina. XXII Con. Nal. de Microbiología. 21-24 de mayo, 1991. Acapulco, Guerrero.
60. VAZQUEZ, N. J. VELAZQUEZ, Q. F. y MANCERA, M. A : Elaboración de un antígeno específico para el diagnóstico de *Brucella canis*. XXIII Congreso Nal. de AMNVEPE, Acapulco, Guerrero, 1992.
61. VAZQUEZ, N. J.: Preparación de antígenos rugosos y diagnóstico de la Brucelosis canina (*Brucella canis*), Curso teórico práctico de Diagnóstico de Brucelosis Animal, CENID-MICROBIOLOGIA, INIFAP-SARH, Cuajimalpa, D. F., 1994.
62. VILLALBA, E. J.; GARRIDO, A.; MOLINA, J. M.; POVEDA, J. B.; PORTERO, J. M.: Evaluation of phagocytosis and the humoral response in experimental infection of dogs with *Brucella canis*. *Medicina Veterinaria*, , 9:3, 173-174, 176-180, Córdoba, España 1992.

63. VILLALBA, E. J.; GARRIDO, A.; MOLINA, J. M.; POVEDA, J. B.; PORTERO, J. M.:
Haemograma in canine brucellosis. *Medicina Veterinaria*, 9:2, 99-100, 102-104, Córdoba,
España, 1990.