

Presence of *Brucella canis* in dogs from two shelters at Bucaramanga city (Colombia) during 2012^x

Determinación de la presencia de Brucella canis en caninos de dos refugios de la ciudad de Bucaramanga en 2012

Determinação da presença de Brucella canis em cães de dois canis da cidade de Bucaramanga em 2012

Rubén Uribe Valderrama, MV, Msc¹; Karen Delgado Villamizar, MV, Esp¹.

**Autor para correspondencia: Rubén Darío Valderrama, Calle 35 #24- 24, Floridablanca. Santander. Colombia. E-mail: rubendario10@hotmail.c*

¹Grupo de investigación GIRA, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad UDES. Campus Lagos del Cacique, Bucaramanga Santander.

(Recibido: 11 de diciembre, 2012; aceptado: 14 junio, 2013)

Abstract

Canine brucellosis, caused by *Brucella canis*, is a zoonotic bacterial disease worldwide distributed that affects dogs and occasionally man. The incidence of this disease is estimated between 6 and 11 % in Colombia. This study determined the presence of the disease in street dogs from two shelters at the city of Bucaramanga. The sample comprised 136 dogs from a population of 200 animals housed in both shelters. The reliability of the test was 95%. Animals were subjected to complete clinical examination to determine their age and sex.

Vacutainer® tubes without anticoagulant were used during blood sampling by peripheral venipuncture (cephalic vein) for serological tests.

An immunoassay (Anigen quick test) was conducted for the qualitative detection of antibodies. Data were processed by descriptive statistics. Frequency distributions were grouped into class intervals, applying Pearson's correlation coefficient to the variables under study. Groups 1-3, 3-6, and > 6 years of age showed no antibodies against the disease. Similarly, no correlation was observed between gender and disease presence in the studied shelters. It can be concluded that antibodies to *Brucella canis* were not present at the time of sampling and the variables studied are not inherent to the disease. However, considering its importance to public health, further research on this topic is suggested.

^xPara citar este artículo: Valderrama RD, Delgado K. Determinación de la presencia de *Brucella canis* en caninos de dos refugios de la ciudad de Bucaramanga en 2012. Rev CES Med Zootec. 2013; Vol 8 (1): 95-103

Key words

Brucella sp., canine, prevalence, reproductive pathology.

Resumen

La Brucelosis canina, causada por *Brucella canis*, es una enfermedad bacteriana zoonótica de distribución mundial que afecta a caninos y ocasionalmente al hombre. Se estima que su incidencia en Colombia es del 6 al 11%. En este estudio se determinó la presencia de la enfermedad en poblaciones caninas callejeras alojadas en albergues de adopción en la ciudad de Bucaramanga. Para ello se utilizó una muestra de 136 caninos de una población de 200 animales ubicados en dos albergues de la ciudad. La confiabilidad de la prueba fue del 95%. Los animales fueron sometidos a examen clínico semiológico completo para determinar su edad y sexo. Para las pruebas serológicas se realizaron muestreos sanguíneos con vacutainer® a través de punción venosa periférica (vena cefálica) en tubos sin anticoagulante. Para la detección cualitativa de anticuerpos se realizó un inmunoensayo cromatográfico (Test Rápido Anigen). Los datos obtenidos se procesaron bajo por estadística descriptiva. Las distribuciones de las frecuencias se agruparon según los intervalos de clase establecidos en el diseño experimental, aplicando el coeficiente de correlación de Pearson a las variables estudiadas. Se observó que los grupos de 1-3, 3-6 y >de 6 años no presentaron anticuerpos contra la enfermedad. Igualmente, no se evidenció correlación entre género y presencia de la enfermedad en los albergues estudiados. Se puede concluir que no hubo presencia de anticuerpos para *Brucella canis* al momento del muestreo y que las variables estudiadas no son inherentes a la enfermedad. Sin embargo, se sugiere continuar investigando este tema por su importancia para la salud pública.

Palabras clave

Brucella sp., caninos, patología reproductiva, prevalencia.

Resumo

A brucelose canina, causada pela *Brucella canis* é uma doença bacteriana zoonótica de distribuição mundial que afeta a caninos e ocasionalmente ao homem. Estima-se que sua incidência na Colômbia esta entre um 6-11%. Baseado no anterior determinou-se a presença da doença em populações de cachorros de rua alojados em albergues de adoção na cidade de Bucaramanga. Para isto, utilizou-se uma amostra de 136 caninos, de uma população total de 200 cães, em dois albergues da cidade, com uma confiabilidade de 95%. Os animais foram submetidos a um exame clínico semiológico completo, para determinar aproximadamente sua idade e peso; posteriormente, realizaram-se amostragens sanguíneas com vacutainer®, fazendo uma punção venosa periférica (veia cefálica), com tubos sem anticoagulante, para sua utilização nos testes sorológicos. Para a detecção qualitativa dos anticorpos, realizou-se um imunoensaio cromatográfico (Teste Rápido Anigen). As datas obtidas processaram-se sob os parâmetros da estatística descritiva. As distribuições das frequências agruparam-se segundo os intervalos de classe estabelecidos no desenho experimental, aplicando o coeficiente de correlação de Pearson ás variáveis estudadas. Nos resultados obtidos, observou-se que nos grupos 1-3, 3-6 e > de 6 anos de idade, não se encontrou presença de anticorpos contra a doença, igualmente, não se evidenciou correlação entre o gênero e a presença da doença

nos dois canis estudados. Pode-se concluir que a população estudada foi negativa a presença de anticorpos para *Brucella canis* ao momento da amostragem e que as variáveis estudadas não são inerentes à doença. Embora, sugere-se continuar realizando pesquisas referentes nesta temática, por quanto tem muita importância na saúde pública.

Palavras chave

Brucella sp., caninos, patologia reprodutiva, prevalência.

Introducción

La brucelosis canina es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por *Brucella canis* que afecta al perro y ocasionalmente al hombre¹³, por lo cual se ha reconocido al canino como principal fuente de contagio a través del contacto con tejidos placentarios contaminados, fetos abortados, secreciones vaginales o semen de animales infectados, convirtiéndose en una enfermedad de riesgo profesional para Médicos Veterinarios y criadores, además de representar una de las principales causas de pérdidas económicas para criaderos de perros, por que disminuyen el número y calidad de camadas.^{5,9}

La transmisión de la enfermedad se da por contacto directo con secreciones de animales contaminados, los individuos pueden presentar signos diversos¹⁴, porque la bacteria puede infectar a los caninos, por contacto sexual, contacto nasal, por ingestión de tejidos y fluidos contaminados.^{8,15} Entre los signos reproductivos se pueden presentar, mortalidad neonatal, dermatitis escrotal humedad, prostatitis, epididimitis unilateral o bilateral, aumento o atrofia testicular, esterilidad y abortos,¹⁵. Otros signos que se pueden presentar son, uveítis anterior y discoespondilitis¹⁵.

El diagnóstico de la enfermedad se basa en el aislamiento de la bacteria, así como la determinación de anticuerpos contra la infección por *Brucella canis* produce anticuerpos que son detectables por pruebas serológicas a partir de la octava semana post-infección, debido a que la primera fase de la respuesta inmune predomina la inmunoglobulina M (IgM) que va siendo paulatinamente superada por la IgG,

la que es característica de enfermedad crónica.⁵

A nivel mundial se ha encontrado diversas prevalencias de la enfermedad, varios trabajos realizados así lo reportan; 15,57% Ramirez L; 2006 en el Perú¹⁶, de igual forma reportan prevalencias bajas entre el 0,5% en perros con dueño y el 1% en perro callejeros (Lara, et al, 1993) en México¹⁰. En Colombia se han realizado trabajos donde se han evaluado la prevalencia de la enfermedad, Pardo et al., en 2006 1,49%¹⁴ Giraldo 2009, (11%)⁷ y Ruiz, et al., 2010, con un porcentaje de 6,78% de Brucelosis¹⁷. Igualmente, estudios realizados por los doctores Castillo y Cotrino en Bogotá, Colombia en 2009, reporto una prevalencia del 16, 8% en 1446 caninos evaluados, igualmente en este reporte que los caninos entre los 4 a 8 años poseían una prevalencia del 28,43%, mientras que los menores de 1 años solo un 3,4% (comunicación oral). A nivel local, el censo canino realizado 2010, reporta que hay 7978 caninos, entre hembras y machos en Bucaramanga², sin embargo no se ha encontrado en la literatura consultada, un trabajo sobre la prevalencia, ni de presentación de la enfermedad en la ciudad del oriente Colombiano.

Esta patología genera un riesgo para la salud pública⁸ y el contacto es uno de los factores relevantes para la potencial zoonosis. En Colombia se ha aislado la bacteria de humanos convivientes con animales infectados, demostrando el carácter zoonótico de esta enfermedad, sin embargo su control o erradicación no están reglamentados por el Ministerio de Agricultura ni por el Ministerio de la Protección Social.¹², esto exige estudios epidemiológicos que les permitan a los profesionales del área, reconocer la presencia de *Brucella canis* en caninos del área

metropolitana de Bucaramanga y así mismo realizar las medidas pertinentes que disminuyan los riesgos de contaminación, realizando de pruebas diagnósticas a individuos sospechosos y disposición de animales positivos¹⁰. Por tal motivo el objetivo fundamental de esta investigación, fue determinar la presencia de *Brucella canis* en caninos de dos refugios de la ciudad de Bucaramanga.

Materiales y métodos

Enfoque metodológico

El tipo de estudio fue de orden cualitativo observacional

Población y muestra

Se utilizó como población de referencia, hembras y machos caninos en edad reproductiva de los albergues Perro Calle y Caridad Animal de la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia.

Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo aleatorio completamente al azar simple *Muestra*: De una población de 200 caninos aptos para la reproducción, fueron escogidos basados en los siguientes parámetros de inclusión, animales mayores de 1 año, hembras o machos enteros, clínicamente sanos y en condiciones de manejo similares. Se utilizaron 136 animales que cumplieran con estos parámetros. Se utilizó una confiabilidad del 95%, con una posibilidad de error del 5%. Los animales fueron sometidos a examen clínico semiológico completo y muestreo sanguíneo para examen serológico. Y se dividieron por grupos de edades en los siguientes grupos, teniendo en cuenta la metodología utilizada por Ruiz *et al.*, 2010¹⁷. Grupo 1: 1-3 años, Grupo 2: 3 a 6 años y Grupo 3: mayores de 6 años. De igual forma usada y reportada por los Doctores Castillo y Cotrino, 2009. (Comunicación oral)

Diseño estadístico

Los datos obtenidos se procesaron en Microsoft

Excel 2010®, basado en estadística descriptiva y las distribuciones de frecuencias.

Consideraciones éticas

El procedimiento que se realizó a los animales cumple con las condiciones del capítulo VI de la ley 84 de 1989, además con el título III, capítulo 6 de la ley 576 del año 2000 de la República de Colombia.

Procedimientos usados

Selección. Se realizó a través de un estudio clínico semiológico para determinar la población que cumplan las variables de inclusión.

Determinación de la edad. Se tuvo en cuenta, los registros de los albergues y la cronología dental basados en el método usado por Thibaut, J. 2002 determinado así los rangos de edad probables. Teniendo en cuenta la fórmula dentaria decidua canina: $2(i\ 3/3\ c\ 1/1\ pm\ 3/3) = 28$ piezas dentales y la fórmula dentaria definitiva canina: $2(i\ 3/3\ c\ 1/1\ pm\ 4/4\ m\ 2/3) = 42$ piezas dentales²⁰.

Examen clínico – semiológico. A través de un examen clínico exhaustivo, anamnesis, toma de constantes fisiológica (temperatura corporal, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y condición corporal. En este se evidenció que ningún canino tenía signos semiológicos compatibles con la enfermedad a evaluar.

Muestreo. Se realizó mediante de punción venosa periférica (vena cefálica), con vacutainer® para recolectar sangre entera en tubos sin anticoagulante para posterior centrifugación a 300 revoluciones por minuto (r.p.m) durante 5 minutos, obteniendo del suero sanguíneo, que fue congelado a -20°C, usando el método descrito por Ruiz *et al.*; 2010¹⁷

Aplicación de prueba

Se utilizó una prueba diagnóstica comercial “Antigen Rapid C *Brucella* Ab Test Kit” basada en un inmunoensayo cromatográfico en fase sólida, para

la detección cualitativa de anticuerpos de *Brucella canis* en suero. Para evitar el error se utilizaron controles comerciales, suero control positivo, lote 4-04 2013. Esta técnica fue validada por el laboratorio que distribuye el kit en Colombia, obteniendo una sensibilidad y especificidad mayor del 90% y legalmente fue avalado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), bajo registró 7397v del 2010.

Para la aplicación de la prueba, se recolectaron 20 ul de suero utilizando el tubo capilar que posee el kit seguidamente se agregaron 4 gotas (aprox. 160 ul) del buffer del diluyente. Se observó en la ventana de resultados del kit para realizar la lectura de resultados³

Lectura de resultados

Test Rápido Anigen para anticuerpos, presentó las letras T y C que significan Línea del Test y Línea de Control, las dos no fueron visibles antes de aplicar las muestras. La “Línea de Control” se utilizó para control procedimental. La línea de control apareció en todo momento, lo que manifestó que el procedimiento se efectuó correctamente y si los reactivos de control del test funcionaron bien. Se tuvo presenta la indicación que si se hacía visible una “Línea del Test” de color púrpura, era porque si existían anticuerpos de *Brucella canis* en la muestra.³

Resultados

Al examen clínico no se evidenciaron alteraciones en las constantes fisiológicas (temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar). Así mismo se encontraron todos los pacientes en una adecuada condición corporal y el color de sus mucosas rosa. De igual forma no se evidenciaron signos compatibles con Brucelosis tales como historia de abortos o problemas de epididimitis, orquitis, ni alteraciones locomotoras como disco espondilitis.

Para obtener resultados veraces, se realizaron pruebas con suero control positivo, lote 4-04 2013, para evitar errores en la lectura de las muestras sometidas a la prueba, de igual forma una profesional capacitada, realizaron la totalidad de las pruebas.

Semuestrearon 136 caninos, donde el 74,3% de la población fue hembra y el 25,7% fue macho, como lo muestra la figura 1.

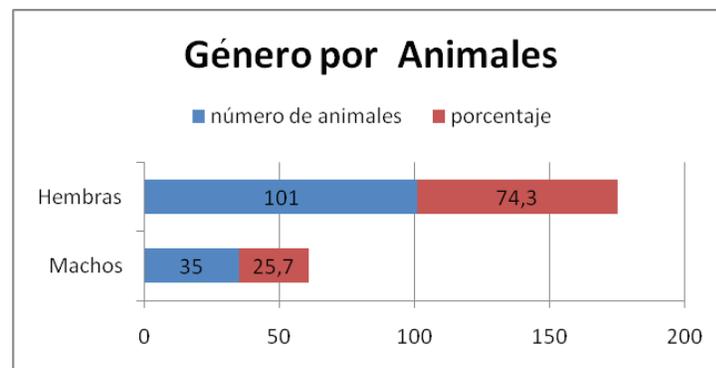


Figura 1. Porcentaje por género de los animales (machos y hembras) utilizados en la investigación.

De igual forma se estableció que de los 136 animales, 35 eran machos y 101 fueron hembras y no reportaron presencia de anticuerpos para *Brucella canis*

En el albergue “Perro Calle”, se evidenció que 32 caninos estaba entre 1 y 3 años, 20 estaban entre los 2 y 6 años, y finalmente mayores de 6 años se encontraron 15 animales.

Se encontró una seroprevalencia para *Brucella canis* en el albergue “Perro Calle” del 0%, todos los animales de este albergue salieron seronegativos como lo muestra la tabla 1.

Al respecto de los grupos de edad se encontró que el grupo de 1 a 3, 3 a 6 y mayores de 6 años la seronegatividad fue del 100%, como se evidencia en la Tabla 1.

Tabla 1. Frecuencias de presentación de *Brucella canis*, según el género y el grupo etario, mediante la prueba rápida de anticuerpo. Albergue Perro Calle.

<i>Sexo</i>	<i>N</i>	<i>Seronegativos</i>	<i>%</i>	<i>Seropositivos</i>	<i>%</i>
<i>Macho</i>	17	17	100	0	0
<i>Hembra</i>	50	50	100	0	0
<i>Edad</i>					
<i>1-3 años</i>	32	32	100	0	0
<i>3-6 años</i>	20	20	100	0	0
<i>>6 años</i>	15	15	100	0	0
<i>Total</i>	67	67	100	0	0

En el albergue “Caridad Animal”, se evidencia que 5 caninos se encontraban entre 1 y 3 años, 45 estaban entre los 2 y 6 años, y finalmente mayores de 6 años se encontraron 19 animales.

A su vez, se encontró una seroprevalencia para *Brucella canis* en el albergue “Caridad Animal”

del 0%, todos los animales de este albergue salieron seronegativos como lo muestra la tabla 2.

Al respecto de los grupos de edad se encontró que el grupo de 1 a 3, 3 a 6 y mayores de 6 años la seronegatividad fue del 100%, como lo evidencia la Tabla 2.

Tabla 2. Frecuencias de presentación de *Brucella canis*, según el género y el grupo etario, mediante la prueba rápida de anticuerpo. Albergue Caridad Animal

<i>Sexo</i>	<i>N</i>	<i>Seronegativos</i>	<i>%</i>	<i>Seropositivo</i>	<i>%</i>
<i>Macho</i>	18	18	100	0	0
<i>Hembra</i>	51	51	100	0	0
<i>Edad</i>					
<i>1-3 años</i>	5	5	100	0	0
<i>3-6 años</i>	45	45	100	0	0
<i>>6 años</i>	19	19	100	0	0
<i>total</i>	69	69	100	0	0

Discusión

La seroprevalencia encontrada en este estudio contra la enfermedad fue del 0,00%. Al comparar estos resultados con otros trabajos relacionados, se puede encontrar que los datos obtenidos son similares a los encontrados por Galvis, E en el 2003 en la ciudad de Valle Grande, Bolivia, donde se reportó una prevalencia del 0,00%, utilizando como prueba diagnósticas la prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar⁶. Sin embargo se han encontrado grandes diferencias sobre prevalencia en diversas investigaciones en diferentes países del mundo, en Estados Unidos se ha reportado prevalencias desde un 0,2 hasta un 13%¹⁶, en Canadá la prevalencia varía del 0,05 al 1,6%⁸, en China varía de 0,5 al 43%¹⁹.

En 2011 la prevalencia de la India se encontraba entre 2,3 y 16%¹⁹; se observa con esto que con los rangos mínimos de prevalencia a la enfermedad no hay diferencias estadísticamente significativas con los datos obtenidos en el presente trabajo. Trabajos de investigación de Ramirez *et al.*, en 2006, reportaron prevalencia de la enfermedad de 15.6%, en perros del Callao, Perú, utilizando como prueba diagnóstica la Inmunodifusión en Gel de Agar, esto resultados son superiores a la investigación actual¹⁶, la gran diferencia puede deberse a que los animales muestreados en el trabajo de Ramirez *et al.*, si estuvieron un evidente contacto previo con la enfermedad o puede deberse al tipo de prueba utilizada.

En el ámbito nacional, la seroprevalencia obtenida en el presente trabajo es menor si se comparada con estudios en población canina callejera en Colombia, 2009, donde se reportaron un 11% de presentación de la enfermedad, ciudad de Medellín y en la región metropolitana, utilizando las pruebas de tamiz de de aglutinación rápida, en placa con 2β-mercaptoetanol y hemocultivo confirmatorio⁷. De igual forma, se evidencia una seroprevalencia mayor en otra investigación realizada por Ruiz J *et al.*, en 2010, los cuales utilizaron como prueba diagnóstica la aglutinación rápida en placa, reportando un 6,78% de la enfermedad¹⁷.

Por otro lado, resultados similares, en su significancia

estadística al trabajo actual se encontraron con la investigación de Pardo *et al.*, el 2009 en la ciudad de Villavicencio, donde se reportó una prevalencia a la enfermedad del 1,7%, utilizando como prueba diagnóstica la aglutinación rápida en placa con antígeno menos mucoide (M-)¹⁴.

En la ciudad de Bucaramanga no se encontró ningún trabajo en la literatura relacionado con la prevalencia de la enfermedad, el cual se pueda comparar. Sin embargo los animales estudiados no reportaban historial de abortos ni otros signos compatibles con la enfermedad, si se basa en lo reportado por Shin y Carmichael en 1999, donde reportan que la epidemiología de la enfermedad se basa en que las infecciones naturales ocurren comúnmente por la ingestión de materiales placentarios contaminados con la enfermedad o por fetos abortados, descargas vaginales de perras infectadas y con fluidos seminales de perros contaminados¹⁸.

Investigaciones como la de Agudelo *et al.*, 2012 reportaron seroprevalencia de la enfermedad del 2.76% en animales, utilizando la prueba inmunoensayo cromatográfico en animales de las zonas urbanas de Medellín¹; se evidencia que es mayor la seroprevalencia si se compara con la investigación actual, pero se hace fundamental resaltar que en este trabajo se utilizó la misma prueba diagnóstica, que en la investigación actual.

Los resultados obtenidos, en las pruebas para la Brucelosis canina, utilizando la prueba de inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos de *Brucella canis* en sangre completa, plasma o suero, con una sensibilidad mayor o igual al 93.0%, y una especificidad del 100%³, trabajos realizados por Animal Genetics (Anigen), donde compararon resultados de pruebas diagnosticas de 2β-mercaptoetanol (34.2%), hemocultivo (24.4%) y Kit Antigen inmunoensayo cromatográfico (34.9%), y no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre 742 animales evaluados². Esto hace evidencia que la ausencia de reactores para la *Brucella canis*, se da por la no presencia de anticuerpo a la enfermedad

en los albergues que se evaluaron. Basados en el nivel de sensibilidad de la prueba, se podría inferir que un 7% de los resultados negativos podrían no ser verdaderos negativos, lo que lleva a determinar que la seroprevalencia de la enfermedad canina puede estar siendo subvalorada en este estudio¹. No obstante el nivel de confianza utilizado en el trabajo minimiza los riesgos de errores en la presente investigación.

Por otra parte, Bodil *et al.*, en 2012, reportaron que en infecciones crónicas de Brucelosis canina, los animales se pueden presentar como negativos a las pruebas serológicas y en los cultivos de sangre⁴. Sin embargo en esta investigación todos los 136 animales evaluados tuvieron este patrón de seronegatividad, lo que hace creer este no sea el caso reportado por dichos investigadores, si no que, los perros encontraban negativos a la enfermedad.

No obstante la transmisión ha sido mostrada en estudios experimentales por vía intravenosa, subcutánea, oral, intravaginal o por contacto de descargas vaginales o machos infectados, siguiendo la exposición experimental a *Brucella canis* los perros desarrollan bacteremia en una a tres semanas, en algunos animales por lo menos un año, los nódulos linfáticos agrandados y los microorganismos existieron en el bazo, hígado, pulmones y órganos de machos, por lo menos 6 meses, es el problema más largo observado¹¹. Los perros mantuvieron nivel muy alto de anticuerpos a lo largo de todo el periodo de bacteremia los sujetos declinaron en aquellos perros que se volvieron negativos al hemocultivo, siendo el hemocultivo más sensible de las pruebas de antígeno anticuerpos⁷

Lo que se puede decir es que aparentemente los perros callejeros que llegan al albergue son seronegativos. Que hay que trabajar en criaderos, como plantea Ruiz *et al.*, en 2010, los centros de albergues de caninos callejeros se vuelven bastiones fundamentales, convirtiéndose en centro de monitoreo y control de la enfermedad, mediante la implementación de programa de esterilizaciones masivas de machos y hembras¹⁷ de los individuos que están en estos centros de paso y que están esperando a ser adoptados, esto es fundamental

para disminuir el potencial zoonótico de la *Brucella*.

Conclusiones

Se puede concluir que no se halló la presencia de anticuerpos contra la *Brucella canis*, utilizando El Kit del Test Rápido (inmunoensayo cromatográfico, como método de diagnóstico en los albergues muestreados en la ciudad de Bucaramanga en 2012.

Agradecimientos

Los investigadores agradecen a los albergues de población canina callejera. Perro Calle, Caridad Animal y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Santander por la financiación de este proyecto.

Referencias

1. Agudelo P, Castro B, Rojo R y Henao S. Seroprevalencia y factores de riesgo para brucelosis canina en perros domésticos de once comunas de la ciudad de Medellín-Colombia. 2012. Rev. salud pública. 14 (4): 644-656
2. Arismendy A, Ariza O, Bautista J, Bello J, Chacon J, Delgado, *et al.* Primer censo canino y felino del área urbana del municipio de Bucaramanga, 2010; Tesis de pregrado. Universidad Cooperativa de Colombia UCC. Sede Bucaramanga. Pg 130. URL: F7C37_011_Censo Canino y Felino.doc
3. Bionote inc. FASTest® BRUCELLA c. Test-kit for the Detection of *Brucella canis* of IgG antibodies in Whole Blood, Plasma or Serum of the Dog. 2011
4. Bodil S, Karin L, Ernholm L, Eld K, Cedersmyg M, Hallgren G. The first case of *Brucella canis* in Sweden: background, case report and recommendations from a northern European perspective. Holst *et al.* Acta Veterinaria Scandinavica 2012; 54:18. URL: <http://www.actavetscand.com/content/54/1/18>. acceso 7 Dic. 2012.

5. Carmichael LE, Shin SJ. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*; 1996; 11:161-165
6. Galvis. E. Prevalencia de la Brucelosis canina en la ciudad de Vallegrande. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma "GABRIEL RENE MORENO". Bolivia. 2003; Pg 1- 44.
7. Giraldo. C, Ruiz. Z, Cortés. M, Olivera. A. *Brucella canis* en Medellín (COLOMBIA), un problema actual. . *rev.udcaactual.divulg.cient.*, Bogotá, 2009; V12, n1. URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262009000100006&lng=en&nrn=iso. acceso 10 Dic. 2012.
8. Hankenson. C, Johnston. N, Weigler. BJ, y Di Gia. RF.. Overview Zoonoses of Occupational Health Importance in Contemporary Laboratory Animal Research. *Comparative Medicine*. 2003; Vol 53, No 6. Pg 582-583.
9. Hollett. RB. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology*; 2006; 66:575-587.
10. Lara J, Argaez F, Rodríguez. J, Alzina A. Brucelosis canina: Estudio serológico de la ciudad de Mérida, Yucatán. *Rev Biomed*, 1993; vol 4 no 1: Enero – Marzo, pg. 15 – 18.
11. López, MG. Brucelosis canina (revisión documental). Tesis de pregrado. Universidad Michoacana de San Nicolás De Hidalgo. México. 2009; Pg. 1-43.
12. Méndez. N, Mota. C, Díaz. A y Monroy. B. Seguimiento de un brote de *Brucella canis* en un criadero de la ciudad de México. *Memorias*: 1998; XIX Congreso Nacional de AMMVEPE. México.
13. Olivera. M, DI-Lorenzo. C. Aislamiento de *Brucella canis* en un humano conviviente con caninos infectados. Informe de un caso. *Colombia Médica*. 2009; Vol. 40 N° 2 pg. 218-20.
14. Pardo. A, Pérez. C, Góngora. A, Gómez L.. Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio-Colombia. *Rev.MVZ Córdoba* 2009; 14(2):1690-1696.
15. Polanco. B. 2005. Infertilidad canina por *Brucella canis*. En: Olivera, M.; Gobeló, C. (Eds). *El Libro Latinoamericano de Reproducción canina y felina*. Ed. Biogénesis (Colombia); p.249-265.
16. Ramírez. H, Calle. S, Echevarría. L, y Morales.S.. Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la provincia constitucional del Callao. *Rev Inv Vet Perú*; 2006; 17 (1): 39-4 URL: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v17n1/a07v17n1.pdf> Acceso 6 Dic 2012.
17. Ruiz. JD, Giraldo. CA, López. LV, Chica. JF. Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del Centro de Bienestar Animal "La Perla", Medellín (Colombia), 2008. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2010; Vol 23, No 2; 166-172. Acceso 7 Dic 2012.
18. Shin. J y Carmichael. L. 1999. *Brucelosis canina* causada por *Brucella canis*. International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. URL: http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/shin_es/ivis.pdf Acceso 20 Abril 2013.
19. The Center for Food Security and Public Health. Canine Brucellosis. *Brucella canis*, Contagious abortion. Iowa State University. 2012; Pg 1-9
20. Thibaut. J. Guía práctica de actividades de clínica de pequeños animales. 2002; Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile