

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias de la Salud

**Presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas
(Leptospirosis, distemper y brucelosis) en zorros andinos
(*Lycalopex culpaeus*) que habitan en los páramos de la Hacienda
Antisanilla (Pintag-Ecuador).**

Nicole Veintimilla

Andrés Ortega, MVZ., Director de Tesis

Tesis de grado como requisito para la
obtención del título de Médico Veterinario

Quito

Mayo, 2015

**Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias de la Salud**

HOJA DE APROBACION DE TESIS

Presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas (Leptospirosis, distemper y brucelosis) en zorros andinos (*Lycalopex culpaeus*) que habitan en los páramos de la Hacienda Antisanilla (Pintag-Ecuador).

Nicole Veintimilla

Dr. Andrés Ortega., DMVZ
Director de tesis
Miembro del Comité de Tesis

Dra. Gabriela Chávez., DMVZ. Esp.
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Luis Vazco., DMVZ
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Francisco Cabrera., DMVZ
Miembro del Comité de Tesis

Dra. Ivette Dueñas., MSc.
Decana de Escuela de Medicina Veterinaria

Quito, mayo 2015

© Derechos de autor

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nicole Veintimilla Silva

C. I.: 1712752144

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me ayudaron con la realización de esta tesis. Le agradezco a mi padre por su apoyo y ayuda incondicional siempre. A Andrés Ortega, por toda la paciencia y ayuda ofrecida durante la parte práctica y teórica. Al Fondo de Ayuda a Fauna Silvestre “Tueri” de la USFQ y al Hospital Docente de Especialidades Veterinarias - USFQ por su apoyo para la realización de los exámenes de laboratorio. Un agradecimiento muy especial a Miriam Iza, David Rojas, Luis Vasco y a Gabriela Chávez por toda su ayuda en la parte de Laboratorio. Y también a Juan Sebastián Galecio por todo su apoyo en el proceso de elaboración de la tesis.

RESUMEN

El zorro andino (*Lycalopex culpaeus*) es conocido en el Ecuador también como lobo de páramo, habita en páramos ecuatorianos entre 1,800 – 4,000 msnm, es el cánido silvestre más grande del país; sin embargo, no se encuentra suficientemente estudiado. El fin del presente estudio fue determinar la presencia de las principales enfermedades parasitarias e infecciosas de cánidos domésticos (Leptospirosis, distemper y brucelosis) en lobos capturados mediante jaulas trampa en la hacienda Antisanilla, ubicada en la parroquia Pintag del Distrito Metropolitano de Quito. De los exámenes serológicos realizados (n=9) no se obtuvieron resultados positivos para la detección de antígeno contra el Virus del Distemper Canino, ni anticuerpos contra *Leptospira* sp. Sin embargo, se obtuvo un resultado sospechoso de *Brucella canis*. Además, se compararon los exámenes coproparasitarios realizados a los lobos de páramo con los realizados en perros domésticos (n=10) capturados en la misma zona; encontrándose que el 94,7% de animales muestreados (n=19) no presentaban ningún parásito o tenían una carga parasitaria baja. El único endoparásito en común entre lobos y perros fue *Ancylostoma caninum*. Solamente uno de los individuos muestreados (*Lycalopex culpaeus* N° 9) presentó varios tipos de parásitos entre estos coccidios; además de un alto número de huevos de *Ancylostoma caninum* (25 huevos/gr de heces).

ABSTRACT

The culpeo (*Lycalopex culpaeus*) lives in the Ecuadorian Andes and it can be found at altitudes ranging between 1.800 to 4.000 meters above sea level. It is the largest wild canid in the country; however, it has not been sufficiently studied. The purpose of this study was to detect the presence of the principal infectious and parasitic diseases (Leptospirosis, distemper and brucellosis) that affect domestic canids in foxes captured by trap cages in Antisanilla, located in Pintag parish, Metropolitan District of Quito. There were no positive results for antigens against Canine Distemper Virus, nor antibodies against *Leptospira* sp. in the serologically analyzed samples (n=9). However, a suspicious result was obtained against *Brucella canis*. In addition, corpological tests were compared between foxes and domestic dogs (n=10) captured on the same zone. From the samples collected (n=19), 94.7% showed no parasites or a had low parasitic load. The only endoparasite in common between foxes and dogs was *Ancylostoma caninum*. Only one of the sampled animals (*Lycalopex culpaeus* N^o, 9) presented several types of parasites like coccidian. Moreover, there was a large number of *Ancylostoma caninum* (25 eggs/gr of faeces).

TABLA DE CONTENIDO

Agradecimientos	5
Resumen.....	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN.....	12
Hipótesis	18
Objetivo general	19
Objetivos específicos	18
FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	19
Ecosistema del zorro andino.....	19
Relación entre el perro doméstico y la conservación de animales silvestres.....	19
Enfermedades infecciosas emergentes en animales silvestres y su relación con el perro doméstico.....	20
Principales patógenos transmitidos a animales silvestres por el perro doméstico.....	21
Factores que influyen en la transmisión de enfermedades	23
Tamaño de la población huésped	23
Migración.....	24
Áreas urbanas	24
Reducción de la transmisión de enfermedades a poblaciones de zorros andinos.....	26
Conocimientos básicos sobre Leptospirosis.....	28
Etiología	28
Epidemiología	29
Patogénesis	30
Signos clínicos	32
Diagnóstico	33
Tratamiento	35
Control y prevención.....	36
Conocimientos básicos sobre <i>Brucella canis</i>	36
Etiología.....	37
Epidemiología	37
Patogénesis.....	39

Signos clínicos	40
Diagnóstico	42
Tratamiento	44
Control y prevención.....	45
Conocimientos básicos sobre el Virus del Distemper Canino	45
Etiología.....	46
Epidemiología	46
Patogénesis.....	48
Signos clínicos	49
Diagnóstico	50
Tratamiento	52
Control y prevención.....	53
Parásitos encontrados en lobos de páramo en otros estudios.....	54
Parásitos encontrados en el presente estudio	55
<i>Ancylostoma caninum</i>	55
<i>Trichuris vulpis</i>	59
METODOLOGÍA	61
Lugar de estudio	61
Método de captura.....	61
Colecta, conservación y traslado de las muestras.....	62
Laboratorio	63
Detección de anticuerpos contra <i>Brucella canis</i>	63
Detección de antígenos contra Distemper canino	64
Identificación y tipificación de parásitos gastrointestinales	65
RESULTADOS	68
DISCUSIÓN.....	70
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

Lista de figuras

- Figura 1.** Fotografía del 22 de febrero del 2014 a las 02:55. Se observan 3 individuos del género *Lycalopex culpaeus*.....16
- Figura 2.** Fotografía del 03 de marzo del 2014 a las 10:15. Se observa un individuos del género *Lycalopex culpaeus* junto al cadáver de un bovino.....16
- Figura 3.** Fotografía del 15 de febrero del 2014 a las 14:28. Se observan 2 individuos del género *Canis familiaris* junto al cadáver de un bovino.....16
- Figura 4.** Diagrama de flechas las cuales representan la infección del Virus del Distemper Canino entre áreas rurales y urbanas.....25
- Figura 5.** Huevo de *Ancylostoma caninum* encontrado en el examen coproparasitario de un perro capturado durante el presente estudio.....57
- Figura 6.** Huevo de *Necator americanus* encontrado en el examen coproparasitario de un perro capturado durante el presente estudio.....57
- Figura 7.** Ciclo biológico de *Ancylostoma caninum*.....58
- Figura 8.** Huevo de *Trichuris vulpis* encontrado en el examen coproparasitario de un lobo de páramo (*Lucalopex culpaeus*) capturado durante el presente estudio.....59
- Figura 9.** Ciclo biológico de *Trichuris vulpus*.....60
- Figura 10.** Extracción de sangre de la vena cefálica en *Lycalopex culpaeus*.....62
- Figura 11.** Extracción manual de heces en *Lycalopex culpaeus*.....63
- Figura 12.** Preparación de las muestras fecales de un mismo individuo mediante la técnica de flotación y mediante la técnica de Mc master (2 por cada técnica).....67

Lista de tablas

Tabla 1. Resultados de las pruebas serológicas realizadas a los nueve lobos de páramo (<i>Lycalopex culpaeus</i>).....	68
Tabla 2. Resultados coproparasitarios obtenidos mediante prueba de flotación de Mc Master en lobos de páramo (<i>Lycalopex culpaeus</i>) y perros domésticos (<i>Canis familiaris</i>).....	69

INTRODUCCIÓN

En América Latina habitan 11 tipos distintos de cánidos, entre estos el zorro andino o también conocido en el Ecuador como lobo de páramo (Soler, Carenton, Salvarori y Coles, 2004). Estos se distribuye en la región alta de los Andes, desde el sur de Colombia hasta Chile (Eisemberg y RedFord, 2000). En el Ecuador habita en los páramos entre 1,800 – 4,000 msnm (Albuja y Arcos, 2007). Es el cánido silvestre más grande del país; puede llegar a pesar entre 6-13 kg y medir alrededor de 1,70 m de largo (Tirira, 2004). El dimorfismo sexual está presente en esta especie, siendo los machos aproximadamente 1,5 veces más grandes que las hembras (Johnson y Franklin, 1994). Se alimentan principalmente de animales pequeños como conejos, aves y roedores (Pozo y Trujillo, 2004), además de carroña (Ortega, 2014). Adicionalmente, se ha reportado que tiene hábitos alimentarios oportunistas: se alimenta de las presas que estén a su disposición dependiendo de su ubicación y de la estacionalidad (RedFord y Eisemberg, 2000; Romo, 1995). Inclusive, en muchas ocasiones pueden cazar aves domésticas, ovejas, cabras e incluso llamas pequeñas (Lucherini y Merino, 2008).

Los perros domésticos (*Canis familiaris*) han acompañado al humano por más de 15,000 años y es por esta razón que se distribuyen a nivel mundial, siendo la especie de cánido más abundante en la tierra (Hare, Brown, Williamson, y Tomasello, 2002; Leonard *et al.*, 2002; Aliaga, Ríos y Ticona, 2012). En el Ecuador, el perro doméstico, en las zonas rurales principalmente, tiene la libertad de desplazarse distancias considerables debido a la falta de control de sus propietarios. La falta de control de la población de cánidos domésticos los ha asilvestrados (con cierta dependencia del humano) o convertido en

animales ferales, lo cual causa un problema tanto en la conservación como salud de los animales silvestres, entre ellos del zorro andino. Dentro de estos problemas se encuentran la competencia por recursos alimenticios y la transmisión de enfermedades como la rabia, distemper canino, parvovirus, brucelosis y parásitos externos e internos (Laurenson *et al.*, 1998; Campos, Esteves, Ferraz, Crawshaw y Verdade, 2007; Aliaga, Ríos y Ticona, 2012; Oliveira *et al.*, 2012). Se reporta que en varias ocasiones los perros asilvestrados han sido los causantes de ataques a animales como ovejas, cabras, burros, conejos, venados y ganado vacuno (Ushiña, 2014), causándoles heridas graves o incluso la muerte. Esto ha ocasionado que los zorros sean culpados por las comunidades locales de las pérdidas de sus animales (Aliaga, Ríos y Ticona, 2012).

Al igual que otros cánidos silvestres, los zorros son reconocidos como hospedadores definitivos y diseminadores accidentales de varios parásitos que pueden afectar a otras especies (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013; Mc Callum y Dobson, 1995). De igual forma, son susceptibles de adquirir patógenos de otras especies ya sean domésticas o silvestres, con las cuales comparten su hábitat (Schantz y Lord, 1972). Existen reportes de parásitos como *Toxocara* y *Ancylostoma* cuya presencia en el zorro andino podría estar relacionada con su presencia en perros domésticos (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013). Por otro lado, también existen reportes de infestaciones en forma natural a hospedadores no habituales de *Corynosoma obtuscens* en el perro doméstico y en el zorro andino, en los cuales causa lesiones intestinales y tiene implicaciones en la salud pública debido a su capacidad infestiva hacia el humano (Cabrera, Rojas y Davalos, 1999; Castro y Martínez, 2004).

Por medio de la utilización de cámaras trampa se ha logrado determinar que en los páramos de la hacienda Antisanilla, perros asilvestrados y zorros andinos comparten el

territorio; sin embargo, esto no ocurre únicamente en el Ecuador. Un estudio realizado en Bolivia reporta encuentros cercanos entre perros domésticos y lobos de páramo. Los autores, observaron que los perros domésticos se acercan de forma agresiva y violenta a la carroña sin importar que algún animal como zorros o cóndores se encuentre alimentándose de esta (Aliaga, Ríos y Ticona, 2012).

El distemper canino, la leptospirosis y la brucelosis representan un riesgo para los cánidos silvestre (Proença *et al.*, 2013). Existen reportes de varios casos de lobos del género *Lycalopex* con signos de distemper canino en Chile (González, Ortega, Rivera, y Cabello, 2003; Moreira y Stutzin, 2005). Se ha generado la hipótesis de que los perros domésticos rurales pueden actuar como reservorio del patógeno y transmitirlo directamente, debido a la alta densidad poblacional de perros domésticos rurales que comparten el hábitat con lobos de páramo en este sector (Acosta-Jamett, Cleaveland, Cunningham y Bronsvort, 2010). Por otra parte, también se han reportado casos de zorros andinos positivos a *Leptospira sp.* (Santos *et al.*, 2012; Scialfa *et al.*, 2013). Además del reporte de *Lycalopex* con anticuerpos contra *Brucella sp* (Azevedo *et al.*, 2009).

Estudios realizados con anterioridad en zorros de páramo demostraron la presencia de parásitos gastrointestinales, tal es el caso de huevos de céstodos de la familia Taenidae; huevos de nemátodos como *Toxocara sp.*, *Trichuris sp.*, *Ancylostoma sp.* y *Strongylus sp.*, además de ooquistes de coccidios (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013). También se han reportado parásitos como *Taenia hydatigena* adherida a la mucosa del intestino delgado como hallazgo en necropsias. Sin embargo, los exámenes coprológicos realizados con anterioridad en estos individuos no mostraron ninguna forma parasitaria (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013; Moro *et al.*, 1998). Algunos estudios sugieren la transmisión de parásitos como

Toxocara canis y *Ancylostoma* entre cánidos domésticos y silvestres (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013; Fiorello, Deem, Gompper y Dubovi, 2004; Deem y Emons, 2005; Vieira, Luque, Suell, Moraes y Muniz, 2012).

La parroquia Pintag, ubicada a 2,829 msnm, se encuentra en las faldas del volcán Antisana en el Distrito Metropolitano de Quito. Esta se encuentra cerca del páramo y al igual que en otros poblados ecuatorianos, cuenta con un alto número de perros domésticos rurales que deambulan por la zona en busca de alimento (OPS, 2003). El uso de cámaras trampa es una técnica común en la investigación de carnívoros, utilizada para recoger información sobre estas especies (Monteverde y Puido, 2011). Cámaras trampa colocadas en Antisanilla capturaron fotografías de varios individuos de la especie *Lycalopex culpaeus* (Figura 1 y 2) además de varias imágenes de perros asilvestrados (*Canis Familiaris*) (Figura 3).

Los perros domésticos son reservorio de muchas enfermedades infecciosas y representan un potencial riesgo de infección hacia las poblaciones de cánidos silvestres (Proença *et al.*, 2013). El distemper canino es una de las enfermedades infecciosas más importantes en perros domésticos. Además de causar la enfermedad en esta especie, el virus produce alta mortalidad en carnívoros silvestres y puede afectar de manera significativa su población (Acosta-Jamett *et al.*, 2011). Por otro lado, la leptospirosis es una enfermedad infecciosa de gran importancia para la salud pública y su ciclo epidemiológico involucra al ser humano, a los animales domésticos y silvestres (Santos *et al.*, 2012). Adicionalmente, la bacteria del género *Brucella sp.* afecta a una gran variedad de animales entre estos los cánidos silvestres (Antunes *et al.*, 2010).



Figura 1. Fotografía tomada mediante cámara trampa en la Hacienda Antisanilla el 22 de febrero del 2014 a las 02:55. Se observan 3 individuos del género *Lycalopex culpaeus*.



Figura 2. Fotografía tomada mediante cámara trampa en la Hacienda Antisanilla el 03 de marzo del 2014 a las 10:15. Se observa un individuos del género *Lycalopex culpaeus* junto al cadáver de un bovino.



Figura 3. Fotografía tomada mediante cámara trampa en la Hacienda Antisanilla el 15 de febrero del 2014 a las 14:28. Se observan 2 individuos del género *Canis familiaris* junto al cadáver de un bovino.

Los estudios coproparasitológicos en zorros andinos están muy poco desarrollados y hasta la fecha son escasos o nulos los trabajos realizados en el Ecuador sobre la relación parasitológica entre los perros asilvestrados y el zorro andino. La recopilación y categorización de información acerca de la fauna parasitaria de *Lycalopex culpaeus*, contribuirá a estimar el estado de salud de estos animales y de los perros domésticos rurales con los que comparten su hábitat.

En el Ecuador no existen estudios acerca de la presencia de *Leptospira sp.*, *Brucella canis* ni distemper canino en lobos de páramo. Tampoco hay investigaciones acerca de la relación coproparasitaria entre los zorros andinos y los perros domésticos rurales que habitan en el páramo de la hacienda Antisanilla. Al no poseer información al respecto se desconoce la gravedad de las consecuencias sobre los esfuerzos en la conservación del zorro andino en el Ecuador. Es por esto que el problema radica en la siguiente pregunta: Existe presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas (Leptospirosis, distemper y brucelosis) en zorros andinos (*Lycalopex culpaeus*) que habitan en los páramos de la Hacienda Antisanilla?

Hipótesis

Existe presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas propias de los cánidos (Leptospirosis, distemper y brucelosis) en zorros andinos (*Lycalopex culpaeus*) que habitan en los páramos de la Hacienda Antisanilla.

Objetivo general

Determinar la presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas propias de los cánidos (Leptospirosis, distemper y brucelosis) en zorros andinos (*Lycalopex culpaeus*) que habitan en los páramos de la Hacienda Antisanilla.

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de antígenos contra el Virus del Distemper Canino y de anticuerpos contra *Brúcela canis* y *Leptospira* sp. en lobos de páramo mediante pruebas serológicas.
- Establecer si existe similitud de parásitos entre lobos de páramo y perros domésticos rurales a través de la colección y análisis coprológico de las muestras mediante la técnica de flotación y Mc Master.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Ecosistema del zorro andino

El lobo de páramo se distribuye en los Andes y regiones elevadas de varios países de América del Sur como: Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y Perú (Jiménez, Yáñez, Tabilo y Jaksic, 1995; Novaro, 1997). Habita en ambientes áridos o semiáridos, en regiones de la sierra ya sean abiertas o forestadas, en páramos, praderas y también bosques nativos (Medel y Jaksic, 1988; Jiménez, Yáñez, Tabilo y Jaksic, 1996; Novaro, 1997). Usualmente se asocian a zonas elevadas de los Andes sobre los 4,500 msnm (Jiménez, Yáñez, Tabilo y Jaksic, 1996). Sin embargo, rara vez también se los puede encontrar en planicies y montañas bajas (Red Ford y Eisenberg, 2000). En el Ecuador, el lobo de páramo, se encuentra en la región Andina, entre los 1,800 – 4,000 msnm (Novaro, 1997; Albuja y Arcos, 2007).

Relación entre el perro doméstico y la conservación de animales silvestres

Los perros domésticos (*Canis familiaris*) se distribuyen a nivel mundial, siendo la especie de cánido más abundante en la tierra (Hare, Brown, Williamson y Tomasello, 2002; Leonard *et al.*, 2002;; Aliaga, Ríos y Ticona, 2012). Se estima que su población mundial es de alrededor de 900 millones de individuos y se encuentra en continuo crecimiento (Gompper, 2014). Esta especie ha sido identificada como reservorio de enfermedades infecciosas y ha causado varias epidemias en carnívoros silvestres (Acosta-Jamett, 2009).

Los perros domésticos son portadores de varias enfermedades infecciosas y parasitarias importantes para la conservación de animales silvestres o de interés en la salud pública (Acosta-Jamett, 2009). Esta especie afecta a las poblaciones de animales silvestres no solo mediante la transmisión de enfermedades, si no también por la competencia por alimento y hábitat (Laurenson *et al.*, 1998; Osofsky *et al.*, 2005).

El incremento de la población y distribución humana hacia regiones no habitadas previamente, ha aumentado el contacto entre personas, animales domésticos y silvestres (Medina-Vogel, 2010), lo que representa un potencial riesgo de extinción de poblaciones de animales silvestres y puede influenciar en la aparición de enfermedades emergentes (Paez, Saad, Nunez y Boshell, 2005). Las enfermedades que se mantienen en una población de perros (reservorio) pueden afectar potencialmente a los animales silvestre (objetivo) a través de un mecanismo de desbordamiento “spill-over” (Daszak, Cunningham y Hyatt, 2000) y ser considerados como una amenaza para la conservación (Haydon, Laurenson y Sillero-Zubir, 2002).

Enfermedades infecciosas emergentes en animales silvestres y su relación con el perro doméstico

Las enfermedades infecciosas emergentes son todas aquellas causadas por nuevos patógenos, o agentes que recientemente han aumentado su incidencia, distribución geográfica, incorporando huéspedes nuevos o recientemente descubiertos (Daszak, Cunningham y Hyatt, 2000). Existen tres tipos de enfermedades emergentes en animales silvestres: 1) aquellas que se presentan debido a un incremento en la susceptibilidad del huésped; 2) aquellas que se han tornado más virulentas, debido a cambios ambientales que

favorecen al patógeno; y 3) aquellas en que los patógenos recientemente han invadido nuevos huéspedes, con el sistema inmune debilitado, debido a situaciones ambientales adversas (Dobson y Foufopoulos, 2001). El perro doméstico es conocido por ser fuente de transmisión hacia cánidos silvestres de enfermedades infecciosas como el virus del distemper, parvovirus y brucelosis (González, Ortega, Rivera y Cabello, 2003; Moreira y Stutzin, 2005; Azevedo *et al.*, 2009).

Principales patógenos transmitidos a animales silvestres por el perro doméstico

En Latinoamérica, especialmente en las zonas rurales, la mayoría de los perros domésticos, a pesar de tener dueño, deambulan libremente (Garde, Pérez, Acosta-Jamett y Bronsvort, 2013). Esto los expone a enfermedades debido a la cercanía que tienen con roedores, otros cánidos y por la ingesta de basura (Millán *et al.*, 2013). Debido a la libertad del perro doméstico, este puede llegar a compartir su hábitat con carnívoros silvestres, lo que ayuda a la transmisión de enfermedades entre ambas especies (Acosta-Jamett, 2009).

Existen más de 350 patógenos que pueden infectar al perro doméstico y de este valor el 91% puede infectar a otras especies (Cleaveland, Laurenson y Taylor, 2001). Estos patógenos se pueden dividir en 2 grupos: 1) los micropatógenos, cumplen su ciclo biológico dentro del huésped, e incluyen virus, bacterias y protozoos, y los 2) parásitos, cumplen su ciclo biológico fuera del huésped, produciendo larvas para poder infectar a otros individuos, estos incluyen helmintos y artrópodos (Sinclair, Fryxell y Caughley, 2006).

Micropatógenos

De los varios patógenos que afectan a los perros, solo unos pocos se cree que son de importancia para la conservación de cánidos silvestres. Entre estos se encuentran, el virus de la Rabia, Distemper virus y Parvovirus canino (Knobel, Butler, Lembo, Critchlow y Gompper, 2014).

El virus de la Rabia es de principal importancia, debido a que también afecta a la salud humana (Lescureux y Linnell, 2014). En Asia y en África los perros siguen siendo considerados como el principal reservorio de esta enfermedad (Knobel *et al.*, 2005). Sin embargo, el rol del perro doméstico en la transmisión de Distemper Canino y Parvovirus Canino sigue en duda (Lescureux y Linnell, 2014). A pesar de esto, se han reportado casos en los cuales se asume que el perro doméstico es el principal responsable de las epidemias causadas por estos agentes.

Por ejemplo, se conoce acerca de un brote de parvovirus, originado por perros domésticos, el cual afectó de manera significativa a la población de lobos (*Canis lupus*) y cambió dramáticamente su ecosistema (Wilmers, Post, Peterson y Vucetich, 2006). Se reporta también, sobre un brote de Distemper Canino, el cual ocasionó la muerte del 30% de la población de leones (*Panthera leo*) en el Parque Nacional del Serengueti en Tanzania (Roelke-Parker *et al.*, 1996). Además, otros estudios demuestran la presencia de anticuerpos contra el Virus del Distemper canino en lobos del género *Lycalopex vetulus*, *L. griseus* y *L. culpaeus* (Acosta-Jamett, 2009; Megid *et al.*, 2010).

Parásitos

Se tiene reportes acerca de varios parásitos los cuales se pueden transmitir entre carnívoros silvestres y domésticos. Céstodos como *Echinococcus* sp. se han vuelto tema de varias investigaciones debido a que es el causante de la hidatidosis humana (Davidson, Romig, Jenkins, Tryland y Robertson, 2012). Este parásito ha sido encontrado en *Lycalopex culpaeus* y *Lycalopex griseus* (Schantz y Lord, 1972; Aguilera, 2001). Además, se tienen reportes de varios parásitos encontrados en *Lycalopex* sp. con importancia zoonótica como: *Toxocara* sp., *Ancylostoma* sp., *Unicaria stenocephala*, *Tenia* sp., y *Dipylidium caninum* (Moro *et al.*, 1998; Donoso, Skewes, Rubilar, Donoso y Brevis, 2000; Ayala-Aguilar *et al.*, 2013).

Factores que influyen en la transmisión de enfermedades

Existen ciertos factores que pueden influir y colaborar con la transmisión de enfermedades y el mantenimiento de estas en poblaciones susceptibles (Santos, 2014). La interacción de la triada epidemiológica (agente etiológico, huésped y ambiente), pueden desencadenar la aparición de enfermedades infecciosas (Jaramillo y Martínez, 2010).

Tamaño de la población huésped

Estudios demuestran que existe un tamaño mínimo de individuos en una población para que una enfermedad pueda persistir (Keeling y Grenfell, 1997). Epidemiológicamente existen una teoría la cual habla acerca de cómo las enfermedades se transmiten y mantienen en una población. Esta teoría tiene 2 argumentos; el umbral y el “fade-out”

(Anderson y May, 1992). La teoría del umbral, sostiene la idea de que el tamaño de la nueva población huésped o la densidad de esta población, debe ser lo suficientemente grande para garantizar un número básico de reproducción de casos, o un número mínimo de casos secundarios causados por el primer individuo en la población susceptible (Anderson y May, 1992). Por otro lado, la teoría del “fade-out” sostiene que si después de una epidemia el microorganismo logra infectar a todos los miembros susceptibles de una población, el agente tiende a la extinción (Acton, 2012). Es por esto, que el tamaño de la población huésped, es un factor importante que influye en la persistencia de la enfermedad (Santos, 2014).

Migración

La migración de individuos infectados de una población a otra susceptible es necesaria para la transmisión de enfermedades (Hanski y Gilpin, 1997). La teoría de las metapoblaciones y la teoría epidemiológica explican este suceso. Una metapoblación es un grupo de la misma especie que está disperso pero conectado (Magal, Auger y Ruan, 2008). Los individuos enfermos pueden transmitir la enfermedad a otros miembros de su grupo o a los de un grupo diferente mediante migración (Fulford y Roberts, 2002). Además, se espera más casos de infección mientras más cerca se encuentre la población de animales enfermos de la población huésped (Grenfell, Bjornstad y Kappey, 2001).

Áreas urbanas

Las áreas urbanas de ciertos países en desarrollo, son lugares óptimos para que los patógenos de los perros puedan permanecer, debido a factores como el bajo nivel de

vacunación y la alta cantidad de perros domésticos que deambulan libremente (Figura 4) (Acosta-Jammet, 2009).

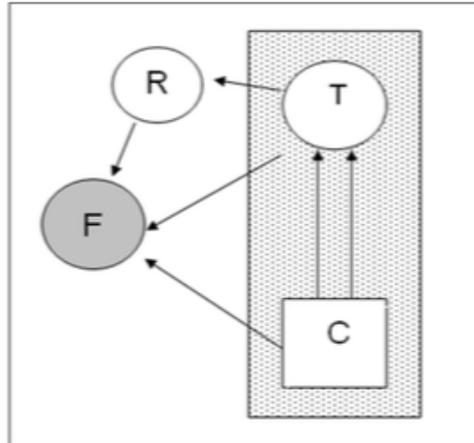


Figura 4. Diagrama de flechas las cuales representan la infección del Virus del Distemper Canino entre áreas rurales y urbanas. (C) representa la población de perros en la ciudad. En los círculos blancos están las poblaciones de perros que no tienen la enfermedad: (T) pueblos y (R) casas rurales. El rectángulo punteado, representa la población reservorio propuesta para el área de estudio. (F) es la población de lobos en vida libre.

Por lo tanto, mientras más grande sea la población de perros domésticos, existe un mayor riesgo de ser portadores y transmisores de enfermedades. Si bien es cierto, la población de zorros silvestres es demasiado pequeña como para mantener una enfermedad, y luego del brote el agente podría desaparecer. Sin embargo, es posible que el agente se encuentre con una población de alta densidad, en la cual una infección esporádica pueda volverse persistente, reapareciendo a su conveniencia (Cleverland *et al.*, 2002).

La transmisión de patógenos de carnívoros domésticos a silvestres, requiere de un contacto cercano (Dobson y Hudson, 1995), lo que pudo comprobarse gracias a las cámaras trampa colocadas en el lugar de estudio. El tamaño de la población de perros domésticos que deambulan libres, la disponibilidad de alimento para los lobos de páramo, la época de reproducción y el tamaño de la población de estos animales, pueden incidir en la

probabilidad de contacto entre cánidos silvestres y domésticos (Acosta-Jammet, 2009). Debido al comportamiento depredatorio de ambas especies, puede aumentar el riesgo de enfermedad a la población de carnívoros silvestres susceptibles (Laurenson, Cleaveland, Artois y Woodroffe 2004).

Reducción de la transmisión de enfermedades a poblaciones de zorros andinos.

Los carnívoros poseen características biológicas que los hacen más susceptibles a enfermedades debido a cambios en su ecosistema. Dentro de estas se encuentra el hecho de poseer una madurez sexual tardía, densidades poblacionales bajas, la habilidad de dispersarse por largas distancias en etapas juveniles o adultas y una tasa de natalidad baja (Sunquist y Sunquist, 2001). Existen algunas opciones para controlar las enfermedades en cánidos silvestres. Por ejemplo, la protección directa y reducción de la transmisión en especies objetivo, el manejo de la infección en especies reservorio y la reducción de la enfermedad en ambas especies (Laurenson, Cleveland, Artois y Woodroffe, 2004).

La protección directa y la reducción de la transmisión en la especie objetivo, es el método de elección en el caso de que no sea posible realizar un seguimiento en la especie reservorio. Al brindar protección directa o tratamiento a los individuos, se reduce de manera significativa la transmisión a una población huésped (Laurenson, Cleveland, Artois y Woodroffe, 2004). La protección directa, como lo es la vacunación, ha sido utilizada incontables veces para proteger especies silvestres. Cuando la vacunación es segura y efectiva en estas especies, se mejora la viabilidad de las poblaciones de cánidos amenazados por enfermedades infecciosas (Laurenson, Cleveland, Artois y Woodroffe,

2004). La vacunación oral contra enfermedades como la rabia, ha sido utilizada desde hace varios años brindando buenos resultados (Sillero-Zubiri y Macdonald, 2004). Tan solo vacunando del 20 al 40% de la población podría ser suficiente para protegerla de la extinción (Haydon, Laurenson y Sillero-Zubiri, 2002).

Por otro lado, se puede proteger a las especies amenazadas, reduciendo el número de individuos en las poblaciones reservorio. En el caso de las especies domésticas como el perro, se puede controlar la tasa de natalidad, realizando esterilizaciones al mayor número de individuos posibles, o también se puede reducir la adquisición de perros por parte de las personas (Costamagna, García, Visciarelli y Casas, 2002). El problema radica en la cultura de la mayoría de pueblos, en los que no consideran la esterilización como una prioridad, ni tampoco existe un control del número de perros por familia. Además, existe la opción de una eliminación controlada, que para el caso de perros domésticos no es una práctica ética ni aceptable (Laurenson, Cleveland, Artois y Woodroffe, 2004).

Por último, se encuentra la reducción de la transmisión de la enfermedad entre ambas especies. Teóricamente, si se evita la transmisión se reduciría la enfermedad. Esto se puede lograr evitando que las dos especies compartan la misma área geográfica (Laurenson, Cleveland, Artois y Woodroffe, 2004). Uno de los métodos más utilizados es la prohibición de ingreso de perros domésticos a parques nacionales, el problema radica con perros domésticos rurales. Otra de las opciones, sería la educación en las comunidades cercanas al hábitat de cánidos silvestres (Sillero-Zubiri y Laurenson, 2001).

Conocimientos básicos sobre Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica causada por distintos serovares de *Leptospira* (Geisen *et al.*, 2007). Esta bacteria espiroquetal puede permanecer como reservorio en perros domésticos y animales silvestres (Scialfa *et al.*, 2012). Existen más de 200 serovares diferentes que han sido identificados para *Leptospira interrogans* (Levett, 2001); desafortunadamente, la importancia patogénica de la mayoría de estos serovares es desconocida (Geisen *et al.*, 2007). En la última década, la leptospirosis se ha convertido en una enfermedad infecciosa de importancia mundial (Bharti *et al.*, 2003).

Etiología

La *Leptospira*, es una bacteria espiral con una terminación en gancho, cuya envoltura externa está compuesta por lipopolisacarido (LPS) y un antígeno mucopéptido (Sykes *et al.*, 2011). La enfermedad está causada antigénicamente por distintos serovares de *Leptospira interrogans* (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). Existe un hospedador primario para cada uno de los serovares, lo que mantiene la supervivencia del organismo y su diseminación al medio ambiente (Geisen *et al.*, 2007). Se conocen al menos 10 serovares de importancia en cánidos (Greene y Vandevolve, 2013). Sin embargo, los más comunes son: Icterohaemorrhagiae, Canícola, Bratislava, Pomona, Hardjo, Gryppotyphosa y Wolfii (Boutilier, Carr, Schulman, 2003; Ellis, 2010; Sykes *et al.*, 2011).

Estos serovares se mantienen en la naturaleza en animales tanto domésticos como silvestres subclínicamente infectados, los cuales sirven como potencial fuente de infección incidental para humanos y otros animales (Sykes *et al.*, 2011). Al infectar un hospedador

incidental, se desarrolla una enfermedad clínica severa y el organismo se disemina por periodos más cortos de tiempo (Greene y Vandevolve, 2013). Desde la creación de la vacuna canina contra los serovares Canícola e Icterohaemorrhagiae, en 1970, ha disminuido el reporte de casos causados por estos serogrupos (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). Sin embargo, casos de enfermedad causada por otros serovares como Pomona, Hardjo, Gryppotyphosa y Bratislava han aumentado (Sykes *et al.*, 2011).

Epidemiología

Leptospira sp. ha sido aislada de 150 especies de mamíferos y es conocida ahora como la mayor zoonosis alrededor del mundo y la mayor causa de enfermedad en animales domésticos (Bharti *et al.*, 2003; Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008; Sykes *et al.*, 2011; Greene y Vandevolve, 2013). La enfermedad se transmite por contacto directo o indirecto. La transmisión directa se da por contacto con orina infectada, de forma venérea, transplacentaria, mordidas o ingestión de tejido contaminado (Sykes *et al.*, 2011). La transmisión indirecta se da cuando un animal susceptible es expuesto a agua, suelo, comida o cama contaminada (Greene y Vandevolve, 2013). Fuera del hospedador la *Leptospira* no puede replicarse; sin embargo, las aguas estancadas y los suelos alcalinos saturados con orina, además de, temperaturas ambientales entre 0° y 25° C brindan a las espiroquetas un ambiente óptimo para sobrevivir y mantenerse viable por meses (Sykes *et al.*, 2011).

Se ha observado que la prevalencia de anticuerpos en suero es mucho más común que la enfermedad clínica, lo que sugiere la presencia de infecciones subclínicas (Geisen *et al.*, 2007). Los perros que se recuperan de la infección diseminan el patógeno durante varios meses (Greene y Vandevolve, 2013). La prevalencia de *Leptospira* es mayor en

perros de áreas rurales, perros mantenidos en refugios o en los que no están vacunados (Ellis, 2010), presentando un rango de mortalidad de entre 10-20% (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008).

Estudios epidemiológicos muestran que la preferencia de hospedador cambia a lo largo del tiempo y la región geográfica (Greene y Vandevolve, 2013). Los animales infectados representan un riesgo para la salud pública. La leptospirosis puede ser transmitida a humanos por contacto con orina contaminada (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). Está demostrada la posible infección por vía oral en carnívoros silvestres (Reilly, Hanson y Ferris, 1970). Los zorros del género *Lycalopex* son muy sensibles a infecciones por *L. Interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* (Scialfa *et al.*, 2011). Se reporta una alta prevalencia de *L. icterohaemorrhagiae* en animales silvestres de zonas periurbana (Sykes *et al.*, 2011). Estudios demuestran la presencia de *L. hardjo* y *L. wolffi* en *Lycalopex vetulus* (Santos *et al.*, 2012). Además, también se reporta la presencia de *L. icterohaemorrhagiae* en *Lycalopex griseus* (Scialfa *et al.*, 2011).

Patogénesis

La *Leptospira* penetra la membrana mucosa de los ojos, boca o nariz; o pasa a través de piel lesionada o suavizada por el agua (Dellagostin *et al.*, 2011). Se multiplica rápidamente en sangre, linfa y líquido céfalo raquídeo (Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014). Esta fase toma alrededor de 10 días, hasta que las concentraciones de inmunoglobulinas específicas aumentan en la sangre (Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014). Las inmunoglobulinas eliminan la *Leptospira* de la circulación (Adler y de la Peña, 2010). Cuando la respuesta inmune es efectiva, comienza la segunda fase,

caracterizada por leptospirosis. En la cual hay anticuerpos circulantes en sangre y presencia de *Leptospira* en la orina (Bharti *et al.*, 2003). Después de la fase inmune, la espiroqueta puede continuar invadiendo órganos como riñones, hígado, bazo, sistema nervioso central, ojos y tracto genital, pero sobre todo los que tienen una baja perfusión sanguínea (Greene y Vandevolve, 2013; Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014).

La bacteria se replica y persiste en el epitelio de los túbulos renales y es diseminada al medio ambiente por medio de la orina (Bharti *et al.*, 2003; Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). El fallo renal agudo se da como resultado de la disminución de filtración glomerular por una inflamación renal que impide la perfusión sanguínea y daños en el epitelio de vasos pequeños produce isquemia en el parénquima renal. El hígado, es el segundo órgano más afectado en casos de leptospirosis, el grado de ictericia depende de la severidad de la necrosis hepática crónica. Perros afectados por el serovar *Gryppotyphosa* pueden presentar hepatitis activa. Sin embargo, los perros menores de 6 meses desarrollan comúnmente fallas hepáticas independientemente del serovar involucrado (Greene y Vandevolve, 2013).

El daño causado varía según la virulencia del organismo y la inmunidad del hospedador. Una recuperación eventual depende del aumento de anticuerpos específicos entre 7 a 8 días después de la infección. Animales con tejido renal funcional se recuperarán satisfactoriamente (Greene y Vandevolve, 2013). Por lo general, los serovares *Canicola*, *Bratislava* y *Gryppotyphosa* se asocian a falla renal y los serovares *Icterohaemorrhagiae* y *Pomona* producen un daño hepático. Sin embargo, estas dos patologías pueden darse en infecciones con cualquier serovar (Boutilier, Carr, Schulman, 2003). Por otra parte se han reportado alternaciones como edema y vasculitis en infecciones rápidas y severas como

resultado de daño endotelial o trastornos hemorrágicos (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008).

Signos clínicos

Los signos clínicos dependen de la edad e inmunidad del hospedador, de factores ambientales y de la virulencia del serovar, pero por lo general los animales jóvenes son más sensibles que los animales adultos (Sykes *et al.*, 2011). La infección peraguda puede producir muerte con nulos o escasos signos clínicos previos. En la enfermedad subaguda los animales presentan fiebre, vómito, deshidratación, colapso vascular periférico, taquipnea, pulso rápido e irregular, una reducción del tiempo de llenado capilar y finalmente se produce daño renal y/o hepático (Bharti *et al.*, 2003). Las infecciones subagudas, se caracterizan por la presencia de fiebre, anorexia, vómito, deshidratación, mucosas congestionadas, petequias y equimosis (Greene y Vandevolve, 2013). La infección tubular renal se asocia con nefritis intersticial aguda y necrosis tubular (Sykes *et al.*, 2011). Signos de oliguria o anuria demuestran un progresivo fallo renal. Los perros con infección subaguda pueden recuperar su función renal entre 2-3 semanas. Los animales con falla renal presentan polidipsia, poliuria y dolor abdominal (Sykes *et al.*, 2011).

También se puede observar tos, disnea, conjuntivitis y rinitis (Sykes *et al.*, 2011). Ciertos pacientes pueden presentar intususcepción intestinal, meningitis y uveítis (Greene y Vandevolve, 2013). Además, se reporta la presencia de alteraciones en la coagulación como: hematemesis, melena, epistaxis y petequias (Sykes *et al.*, 2011). La hemorragia pulmonar se conoce más comúnmente como una de las principales y a menudo letales manifestaciones de la leptospirosis, cuya patogenia no está clara todavía (Bharti *et al.*,

2003). Se debe sospechar de leptospirosis en el caso de que un paciente presente signos de falla renal o hepática, uveítis, hemorragia pulmonar, enfermedad febril aguda o aborto (Sykes *et al.*, 2011).

Diagnóstico

- Hallazgos de laboratorio

Durante la infección, es típico encontrar leucocitosis y trombocitopenia. Urea y creatinina se encuentran elevados en 80-90% de los casos, mostrando la presencia de falla renal (Sykes *et al.*, 2011). El pH sanguíneo y las concentraciones séricas de bicarbonato se encuentran disminuidos en animales severamente afectados (Greene y Vandevolve, 2013). Se observan también las enzimas hepáticas, ALT y AST elevadas, además del aumento en la concentración total de bilirrubina (Sykes *et al.*, 2011). Hiponatremia, hipocloremia, hipocalcemia e hipopotasemia ocurre en muchos casos; sin embargo, perros con oliguria o anuria presentan hipercalcemia (Sykes *et al.*, 2011). Se debe considerar sospechoso de leptospirosis aunque únicamente presenten falla hepática (Boutilier, Carr, Schulman, 2003). En el urianálisis se puede observar glucosuria, proteinuria, bilirrubinuria y mayor número de leucocitos y eritrocitos (Greene y Vandevolve, 2013).

- Ecografía

Durante la ecografía se pueden ver anomalías del sistema urinario como: aumento del tamaño renal, pielectasia, aumento de la ecogenicidad cortical y acumulación de fluido perirenal (Greene y Vandevolve, 2013).

- Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas han sido utilizadas por muchos años para detectar infecciones causadas por *Leptospira* (Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014). El método de ELISA es comúnmente utilizado para detectar anticuerpos IgG o IgM. Los anticuerpos IgM aumentan 1 semana después de la infección inicial, presentando el título máximo a las 2 semanas. Los anticuerpos IgG aumentan entre 2 -3 semanas post infección, presentando el título máximo aproximadamente al mes (Greene y Vandevolve, 2013). Es importante tener en cuenta que los anticuerpos IgG aumentan drásticamente después de la vacunación y permanecen elevados durante varios meses (Andre-Fontaine, Aviar, Marie y Chatrenet, 2015).

- Prueba de aglutinación microscópica

La prueba de aglutinación microscópica es la recomendada para el diagnóstico de leptospirosis tanto en animales como en humanos (Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014). Se presenta una reacción de aglutinación entre anticuerpos en el suero y antígenos de la membrana externa de *Leptospira* viva. Luego de la incubación, la mezcla es examinada mediante microscopia de campo oscuro para ver el grado de aglutinación y determinar los títulos serológicos (Chappel, Goris, Palmer y Hartskeerl, 2004). A pesar de ser la prueba recomendada, esta tiene varios aspectos negativos. Por ejemplo se debe mantener el cultivo de *Leptospira* viva, cuidarlo y revisarlo semanalmente, lo que implica más trabajo y un riesgo para el personal de laboratorio (Ahmad, Shah y Ahmad, 2005). Además, este cultivo debe contener todos los serovares existentes en dicha área geográfica

(Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014). Mediante esta prueba no es posible identificar un serovar específico y requiere de personal altamente capacitado debido a que el grado de aglutinación es subjetivo (Levett, 2001). Como detecta anticuerpos IgM e IgG no es posible saber si la infección es actual, reciente o pasada, o incluso si es debido a antígenos vacunales (Loureiro, Martins, Thomé y Lilenbaum, 2014).

- Cultivo bacteriano

Las muestras deben ser tomadas antes de iniciar el tratamiento antibiótico. Los perros son leptospirémicos durante la primera semana de infección. La orina es el fluido ideal para ser cultivado; sin embargo, debido a la eliminación intermitente del virus se deben tomar varias muestras (Greene y Vandevolve, 2013). Es difícil realizar esta técnica debido a que la bacteria no crece fácilmente y necesita ser incubada por varias semanas (Boutilier, Carr, Schulman, 2003).

Tratamiento

La terapia de soporte para animales con *Leptospira* depende de la gravedad de la infección y la presencia de disfunción hepática o renal. Es importante la aplicación de fluidos intravenosos, protectores gástricos y antieméticos. Además, se recomienda la aplicación de una sonda urinaria para medir el volumen total de orina producida (Greene y Vandevolve, 2013). Los antibióticos de elección son la penicilina y doxiciclina. También se puede usar ceftriaxona o cefotaxima (Suputtamongkol *et al.*, 2010). Con tratamiento adecuado, la supervivencia es de aproximadamente 80% (Sykes *et al.*, 2011). Cuando existen afecciones respiratorias la mortalidad es del 36-48% (Kohn *et al.*, 2010). Animales

tratados en un curso tardío de la enfermedad presentan daño renal permanente (Sykes *et al.*, 2011).

Control y prevención

Los reservorios en animales silvestres y domésticos asintomáticos hacen que sea difícil prevenir la enfermedad (Greene y Vandevolve, 2013). En el 2001 se creó una vacuna que cubre también los serovares Pomona y Gryppotyphosa, además de Icterohaemorrhagiae y Canícola (Boutilier, Carr, Schulman, 2003; Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). La vacunación es efectiva reduciendo la prevalencia y severidad de la leptospirosis canina. Se necesitan entre 2-3 dosis vacunales para brindar protección por alrededor de 6-8 meses (Greene y Vandevolve, 2013). Sin embargo, a pesar de la aplicación de la vacuna, un animal puede infectarse (Andre-Fontaine, Aviar, Marie y Chatrenet, 2015). El aumento de urbanización de zonas rurales provee la oportunidad de contacto entre perros infectados y fauna silvestre (Alton, Berke, Reid-Smith, Ojkic y Prescott, 2008). Es posible que la infección en lobos de páramo se dé por contacto con otros animales silvestres o por agua contaminada con orina de animales domésticos o salvajes infectados (Scialfa *et al.*, 2013).

Conocimientos básicos sobre *Brucella canis*

La brucelosis canina es una enfermedad bacteriana contagiosa (Carmichael, 1990), la cual afecta a perros domésticos, cánidos silvestres y humanos (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004). Ha sido reportada en países de América (norte, centro y sur), Japón, China y

esporádicamente en Europa (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). En América Central y Suramérica se han reportado rangos de seroprevalencia en perros ferales de hasta 30%, mientras que en el Sur de Estados Unidos se reporta una prevalencia de hasta el 6% (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004).

Etiología

Brucella canis es una bacteria intracelular gram-negativa que contiene una proteína lipopolisacárida (LPS) compleja, distinta a la estructura general de LPS de otras bacterias Gram negativas. Es sensible al medio ambiente (Greene y Vandeveld, 2013) y fácilmente destruida por desinfectantes comunes como amonio cuaternario, cloro y formaldehído (Hollett, 2006). La brucelosis canina se ha convertido en un serio problema de salud pública en varios países debido al elevado número de perros domésticos que deambulan libremente (Pardo, Pérez, Góngora, Gómez y Moreno, 2009). Un estudio demostró que el 42.8% de perros con signos reproductivos fueron positivos a *Brucella canis* (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004).

Epidemiología

Los cánidos se pueden infectar por 4 de las 6 especies de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis*) (Pardo, Pérez, Góngora, Gómez y Moreno, 2009). La infección por *B. abortus* y *B. suis* se da por ingestión de placentas o fetos abortados del ganado (Greene y Vandeveld, 2013). Sin embargo, la sintomatología clínica se asocia principalmente con *B. canis* (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). A diferencia de otras especies de *Brucella*, *B. canis* afecta únicamente a cánidos domésticos y silvestres (Greene

y Vandeveld, 2013), siendo la enfermedad reproductiva más importante en perros (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008).

La bacteria ingresa al hospedador a través de la membrana mucosa de la cavidad oral, conjuntiva y vagina (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). Las secreciones vaginales y el semen son la fuente más común de infección debido a que es donde existe un mayor número de bacterias (Greene y Vandeveld, 2013). Los perros aparentemente sanos pueden albergar y transmitir la enfermedad a través de la monta, contacto oronasal o ingestión de tejidos o fluidos contaminados (Hollett, 2006). Es por esto que cualquier perro sexualmente maduro y en estado reproductivo es más susceptible a contraer la enfermedad (Hollett, 2006).

Las hembras infectadas pueden transmitir la enfermedad durante el estro, la cría de los cachorros o a través de contacto oronasal luego de un aborto. En los machos, la bacteria se aloja en el epidídimo y próstata haciendo que la orina y el líquido seminal sean una gran fuente de diseminación (Wanke, 2004). La excreción de bacterias mediante la orina comienza de 4-8 semanas post infección (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). Se tienen reportes de aislamiento de *B. canis* también en heces de perros domésticos (Wanke, 2004). La diseminación de la bacteria es intermitente y en pequeñas cantidades y puede continuar hasta 2 años post infección (Greene y Vandeveld, 2013).

La incidencia de *Brucella canis* es baja y la transmisión no es muy eficiente, requiriendo una exposición cercana a animales infectados y una alta cantidad de inoculación del organismo (Greene y Vandeveld, 2013). Las evidencias muestran que los perros ferales en zonas rurales tiene una prevalencia mucho mayor de adquirir la

enfermedad y son el principal reservorio (Hollett, 2006). Estudios realizados en Florida, demuestran que el 3,65% de los perros en refugios, eran positivos a *B.canis* (Hoff y Nichols, 1974). Por otra parte en Argentina, se demostró la positividad del 7.3% de los perros muestreados (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). La prevalencia en países como México y Perú fue del 28% (Greene y Vandeveld, 2013). La infección en cánidos silvestres también ha sido estudiada y se ha reportado la presencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. en 26,6% de individuos muestreados del género *Lycalopex* (Azevedo *et al.*, 2009).

Se conocen varios casos de brucelosis humana causados por *B. canis* en los cuales los paciente presentaron hepatitis y artritis séptica similares a las causadas por otras especies de *Brucella* (Greene y Vandeveld, 2013). El personal de laboratorio, veterinarios y personas que tienen contacto cercano y frecuente con perros infectados, son la población que comúnmente se encuentra afectada (Lucero, Escobar, Ayala y Jacob, 2005). Estudios demostraron que el 72,6% de veterinarios fueron positivos a *B. canis*; sin embargo, solo 8% tenían títulos de anticuerpos mayores a 1:100 (Monroe, Silberg, Morgan y Addes, 1975).

Patogénesis

Brucella canis ingresa por la mucosa oronasal, conjuntival o genital, donde es fagocitada por macrófagos y neutrófilos, posteriormente es transportada a órganos linfáticos y tejido genital donde se replica y permanece intracelularmente (Hollett, 2006). La bacteremia comienza entre 1-4 semanas post infección y puede durar hasta 64 meses (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). En muchas ocasiones, la bacteria se puede

almacenar en tejidos durante varios meses después de terminada la bacteremia (Greene y Vandavelde, 2013). Esto se debe a la poca cantidad de antígenos somáticos bacterianos, lo que hace a *B. canis* invisible frente al sistema inmune (Hollett, 2006). Aunque la bacteremia haya terminado, la bacteria puede seguir siendo diseminada (Lucero, Escobar, Ayala y Jacob, 2005). Algunos animales presentan una recuperación espontánea entre 1-5 años post infección (Hollett, 2006). Estos individuos muestran títulos bajos de anticuerpos en sangre; sin embargo son inmunes a la reinfección (Hollett, 2006).

Durante la fase aguda se produce inflamación del epidídimo y de los testículos ocasionando un derramamiento de espermatozoides. Esto provoca que el sistema inmune produzca anticuerpos aglutinantes anti espermatozoides (Wanke, 2004). Esta respuesta inmune contribuye a la epididimitis, infertilidad y arresto espermático (Greene y Vandavelde, 2013). Una vez que la epididimitis disminuye, se produce atrofia testicular (Wanke, 2004). Muy rara vez se presentan casos de orquitis o de necrosis testicular con dermatitis ulcerativa escrotal causado por *B. canis* (Schoeb y Morton, 1978)

La bacteria también se localiza en la circulación de los discos intervertebrales, causando discoespondilitis, en el ojo provocando uveítis anterior, en los riñones ocasionando glomerulopatías y en las meninges dando como resultado una meningoencefalitis (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008).

Signos clínicos

No existen signos clínicos patognomónicos para la brucelosis canina (Wanke, 2004). Sin embargo, siempre debe ser considerada como primera opción en perros con

alteraciones reproductivas (Hollet, 2006). A pesar de presentar una infección sistémica generalizada, los perros adultos rara vez presentan signos de enfermedad grave (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004). Algunos de los animales pueden presentar signos inespecíficos como pelo hirsuto, intolerancia al ejercicio, pérdida de peso, laminitis, dolor de espalda y cambios en el comportamiento (Wanke, 2004). La fiebre es poco común debido a la carencia de *B. canis* para producir endotoxinas (Hollett, 2006). Sin embargo, los perros con epididimitis si presentan cuadros febriles (Greene y Vandavelde, 2013).

Las hembras, presentan abortos con muerte neonatal entre los 45-60 días de gestación sin ningún otro signo clínico (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004; Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). Los cachorros muestran autolisis parcial y hemorragia, edema y congestión subcutánea, sobre todo a nivel abdominal (Wanke, 2004). En la placenta abortada se puede observar zonas focales de necrosis coagulativa y arteritis necrotizante (Hollett, 2006). Luego del aborto generalmente se presenta una descarga café grisácea durante 1-6 semanas (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004). En ciertas ocasiones la gestación puede llegar a término; sin embargo la mayoría de cachorros mueren después de algunas horas o días (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). Si los cachorros sobreviven, presentan linfadenomegalia periférica generalizada (Wanke, 2004). Algunos también presentan hiperglobulinemia persistente, fiebre transitoria, leucocitosis o convulsiones (Greene y Vandavelde, 2013).

Por otro lado, los machos generalmente aparentar un buen estado de salud pero presentan un escroto agrandado de tamaño debido a la acumulación de líquido serosanguinolento, esto puede complicarse con dermatitis escrotal debido a lamido excesivo (Briseño, Páramo, Flores y Suárez, 2004). Durante la infección temprana se

detiene la espermatogénesis en los tubos seminíferos, en algunos perros se restaura la fertilidad, sin embargo otros quedan estériles (Hollett, 2006). En infecciones crónicas los machos usualmente presentan atrofia testicular unilateral o bilateral (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). En ciertas ocasiones también se ha observado casos de epididimitis, prostatitis, esplenomegalia con linfadenitis generalizada, endoftalmitis y uveítis recurrente (Wanke, 2004; Oñcel, 2005; Hollett, 2006)

Diagnóstico

- Hallazgos de laboratorio

El examen bioquímico y hematológico no se altera en perros con brucelosis (Hollett, 2006). Sin embargo, cuando la enfermedad es crónica se puede observar hiperglobulinemia e hipoalbuminemia. Aspirados o biopsias de nódulos linfáticos muestran una hiperplasia linfoide con un alto número de células plasmáticas. Mientras que en el urianálisis se observan altos niveles de bacterias (Greene y Vandeveld, 2013).

- Examinación de semen

Anormalidades en el semen se pueden observar a partir de la quinta semana post infección. Estas anomalías incluyen espermatozoides inmaduros, acrosomas deformes, parte media inflamada y retención de gota protoplásmica (Greene y Vandeveld, 2013). En la semana 15 post infección se observan colas dobladas, cabezas separadas y aglutinaciones entre cabezas (Hollett, 2006). A partir

de la semana 20 post infección el 90% de espermatozoides son anormales (Greene y Vandavelde, 2013).

- Pruebas serológicas

Las técnicas serológicas son las pruebas más comunes para la detección de *Brucella canis* (Pardo, Pérez, Góngora, Gómez y Moreno, 2009). Son relativamente fáciles y brindan una ventaja práctica para determinar la prevalencia de la infección (Oñcel, 2005). Dentro de estas pruebas tenemos la prueba de aglutinación rápida, prueba de aglutinación en tubo, inmunodifusión en gel agar, prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos y ensayo inmunoabsorbente de enzima ligada (ELISA). Estudios demuestran ineficiencia con la prueba de inmunodifusión en gel agar, ya que únicamente detectó un caso de 16 positivos (Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008).

Estas pruebas pueden dar resultados falsos positivos debido a que el LPS de ciertas bacterias puede producir una reacción cruzada con *B. canis* (Greene y Vandavelde, 2013). Sin embargo, se tiene reportes de que las pruebas de aglutinación estándar para anticuerpos de *B. canis* no tienen reacción cruzada para otras especies de *Brucella* (Lucero *et al.*, 2005). Además, otra causa de resultados falso positivos es la hemoglobina, por lo tanto la muestra a ser analizada no debe estar hemolizada (Greene y Vandavelde, 2013). Las pruebas serológicas pueden dar resultados negativos durante 3-4 semanas post infección a pesar de la presencia de bacteremia a las 2 semanas (Hollett, 2006). La terapia con antibiótico reduce la

bacteremia por lo que se pueden producir un resultado falso negativo (Greene y Vandeveld, 2013).

- Cultivo y aislamiento bacteriano

Si el resultado serológico es ambiguo, lo ideal es realizar un hemocultivo para confirmar el diagnóstico (Lucero, Escobar, Ayala y López, 2002; Oñcel, 2005). Este puede dar resultados positivos desde 2-4 semanas post infección (Hollett, 2006). *B. canis* crece fácilmente en un ambiente aerobio, forma colonias rugosas finamente granulares en agar tripticosa soya y no requiere mantenimiento en CO₂ (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). Sin embargo, si únicamente se realiza cultivo y este sale negativo, no se elimina a *B. canis* como agente etiológico (Hollett, 2006). El diagnóstico definitivo de brucelosis en perros de basa en los hallazgos clínicos, pruebas serológicas y aislamiento bacteriano (Wanke, 2004; Oñcel, 2005).

Tratamiento

Debido a la ubicación persistente intracelular de *B. canis* el tratamiento con antibióticos es dudoso y ninguno es 100% eficaz (Wanke, 2004). La bacteremia puede volver días o meses después de terminado el tratamiento debido a que la bacteria se aloja en tejidos (Hollett, 2006). Como tratamiento se recomienda aplicar una combinación de antibióticos, tetraciclinas o dihidroestreptomicina es lo recomendable. Sin embargo, la estreptomicina no se encuentra disponible en el mercado por lo que ha sido sustituida por gentamicina (Hollett, 2006). Además del tratamiento antibiótico se debe esterilizar al

animal. Sin embargo, la recomendación generalizada para perros seropositivos es la eutanasia debido a que la bacteremia es intermitente y el tratamiento con antibióticos es poco efectivo (Hollett, 2006; Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008).

Control y prevención

Los perros ferales al presentar una alta prevalencia de la enfermedad y ser posible reservorio para *B. canis* representan un riesgo de infección para perros domésticos, humanos y animales silvestres con los cuales comparten su hábitat (Oñcel, 2005; Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008; Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). En el caso de animales ya infectados, estos deben ser aislados y completar un proceso de seguimiento serológico para evitar la rápida diseminación de la enfermedad (Wanke, 2004; Boeri, Escobar, Ayala, Sosa-Estani y Lucero, 2008). Al no existir una vacuna, es importante la esterilización de los animales, tanto para prevenir la enfermedad como para tratarla. (Hollett, 2006).

Conocimientos básicos sobre el Virus del Distemper Canino

El distemper canino fue la enfermedad fatal más común en cánidos durante la primera mitad del siglo XX. Las vacunas disponibles en la década de los 40 no la controlaban. Sin embargo, en los años 60 se crearon vacunas de virus vivo modificado y se logró controlar la enfermedad a lo largo de mucho tiempo. A pesar de esto, la incidencia parece haber aumentado en los últimos años debido a la falta de vacunación (Apple y Summers, 1999).

Etiología

El Virus del Distemper canino (VDC) es un Morbillivirus de la familia Paramixoviridae. Posee una envoltura la cual es fácilmente destruida por solventes lipídicos lo que hace que el virus pierda su capacidad infectiva (Apple y Summers, 1999). Además, es susceptible a la luz ultravioleta, al calor y a la sequedad (Greene y Vandevolve, 2013). Es un virus relativamente grande el cual cuenta con una cadena de ARN en sentido negativo envuelto en una nucleocápside helicoidal (Maclachlan y Dubovi, 2011). Se encuentra dentro de una envoltura lipoprotéica derivada de la membrana celular, donde se incorporan las glicoproteínas virales H (hemaglutinina) y F (proteína de fusión) (Greene y Vandevolve, 2013). Se ha encontrado que el virus a pesar de poseer una variación genética baja, posee varias cepas las cuales difieren en su patogenicidad (Greene y Vandevolve, 2013). Los perros domésticos (*Canis familiaris*) son el principal hospedador para el VDC y pueden actuar como reservorio para animales silvestres (Cleaveland *et al.*, 2000). Sin embargo, existen también otros animales como los mapaches, en los cuales la infección es endémica y pueden servir como reservorio para otras especies salvajes (Kapil *et al.*, 2008).

Epidemiología

El virus del distemper canino está distribuido mundialmente y afecta a especies de la familia Canidae, Procyonidae, Mustelidae, Hyaenidae, Ursidae, Viverridae y Felidae (Arlington, Mendes, Fernandes, Bracarense y Alfieri, 2012). Análisis filogenéticos basados en el gen H demostraron que existen 7 distintos linajes alrededor del mundo: Asia-1, Asia-2, América-1, América-2, Artic-like, fauna silvestre europea y Europa (McCarthy; Shaw;

Goodman, 2007). Esto ha permitido crear un árbol filogenético de modo que se pueda comparar su relación (Arlington, Mendes, Fernandes, Bracarense y Alcindo, 2012).

Es una de las enfermedades virales con mayor morbilidad y mortalidad en el mundo y afecta tanto a perros vacunados como a los que no lo están (Apple y Summers, 1999). Estudios realizados en Brasil muestran que el 12.4% de los casos de muerte o de eutanasia se deben a infecciones por VDC (Del Puerto *et al.*, 2010). Estudios epidemiológicos de prevalencia demuestran que en Brasil el VDC es endémico en poblaciones caninas urbanas (Gouveia, Magalhaes y Ribeiro, 1987). El contacto entre animales recientemente enfermos y una alta tasa de natalidad mantiene la enfermedad en una población (Cleaveland *et al.*, 2000). La inmunidad provocada tras contraer la enfermedad provee inmunidad para toda la vida; sin embargo, la inmunidad post vacunal es menos duradera, por lo tanto los animales deben ser inmunizados periódicamente (Greene y Vandevolve, 2013).

La eliminación del virus comienza aproximadamente 7 días post infección (Apple y Summers, 1999). Los cánidos infectados eliminan el virus por medio de todas las secreciones corporales, independientemente de la presencia de signos clínicos. La principal ruta de transmisión es por medio de secreciones respiratorias. El virus, continúa siendo eliminado por alrededor de 60 a 90 días una vez contraída la infección natural (Greene y Vandevolve, 2013). Los cachorros de 3-6 meses son mucho más susceptibles que los perros mayores (Martela, 2008). La mitad de los perros susceptibles expuestos al VDC desarrollan una respuesta inmune adecuada y se recuperan de la infección sin una manifestación clínica aparente. Sin embargo, la otra mitad, presenta una enfermedad clínica y una tasa de mortalidad de aproximadamente 50% (Apple y Summers, 1999; Greene y Vandevolve, 2013).

Patogénesis

El virus ingresa al hospedador por el sistema respiratorio superior, donde es fagocitado por macrófagos y en 24 horas se disemina hacia las tonsilas, faringe y ganglios linfáticos (Greene y Vandeveldel, 2013). Entre 4 y 6 días empieza a producirse un aumento inicial de la temperatura corporal y leucopenia, debido a la amplia proliferación del virus a órganos linfoides y el bazo (Beineke, Puff, Seehusen y Baumgartner, 2009). La leucopenia, es inicialmente una linfopenia causada por el daño viral a células linfoides T y B (Greene y Vandeveldel, 2013). Durante la segunda y tercera semana, se da el inicio de la respuesta inmune con una segunda fase febril, en la cual se puede producir una recuperación total del individuo sin signos clínicos posteriores, o el virus puede invadir el epitelio del tracto digestivo, respiratorio, urogenital y del SNC dando la presentación del cuadro clínico (Apple y Summers, 1999).

Con un nivel de inmunidad intermedia, los títulos de anticuerpos aumentan y el virus es eliminado del cuerpo. Sin embargo, este puede persistir por un largo periodo en las neuronas, tejido uveal y tegumentario (almohadillas plantares) (Greene y Vandeveldel, 2013). Si la inmunidad del hospedador es baja, el virus se disemina a la piel, glándulas endógenas y exógenas, y al epitelio gastrointestinal, respiratorio y urinario. El cuadro clínico es grave y persiste hasta la muerte del individuo (Greene y Vandeveldel, 2013). La recuperación de la infección se asocia con una inmunidad de larga duración y la suspensión de la dispersión del virus. La protección se puede ver afectada si es un virus altamente virulento o si el animal se encuentra inmunocomprometido o estresado (Nelson y Cuoto,

2010). Además, las infecciones bacterianas secundarias a menudo aumenta la severidad del cuadro clínico (Ettinger y Feldman, 2010).

Signos clínicos

La sintomatología pueden variar en su duración y severidad dependiendo de la cepa vírica, el estado inmunitario, la edad del animal y la ubicación neuroanatómica afectada (Martela, Elia y Buonavoglia, 2008). Los cachorros de 3-6 meses que no recibieron calostro, que no fueron vacunados, o que si lo fueron pero de una forma inadecuada son más susceptibles que los perros mayores (Martela, Elia y Buonavoglia, 2008; Arlington, Mendes, Fernandes, Bracarense y Alfieri, 2012).

Los perros afectados presentan inicialmente signos respiratorios y digestivos como: secreción serosa oculonasal la cual posteriormente se transforma en una secreción mucopurulenta, tos, diarrea, vómito, deshidratación, anorexia y pérdida de peso (Greene y Vandeveld, 2013). En la mayoría de casos estos signos se agravan debido a infecciones bacterianas secundarias (Ettinger y Feldman, 2010). La neumonía viral acompañada con una infección bacteriana secundaria, puede ser mortal en cachorros (Apple y Summers, 1999).

Entre la primera y tercera semana después de la recuperación de los signos sistémicos se pueden desarrollar signos neurológicos, debido a destrucción neuronal, presentando alteraciones como: convulsiones, mioclonía con hiperestesia, incoordinación, ataxia, paresia, parálisis y temblores musculares (Apple y Summers, 1999). Adicionalmente, se pueden presentar signos neurológicos en perros que no desarrollaron

una enfermedad clínica aparente (Beineke, Puff, Seehusen y Baumgartner, 2009). En muchas ocasiones los animales pueden presentar neuritis óptica y lesiones en la retina, lo cual puede causar ceguera o midriasis (Greene y Vandeveldel, 2013). Se ha observado también casos de queratoconjuntivitis seca después de la enfermedad subclínica o sistémica. Además, ciertas cepas virales, pueden producir hiperqueratosis de la almohadilla plantar y de la nariz. La infección puede también producir hipoplasia del esmalte dental en cachorros en los cuales están cambiando de dientes (Greene y Vandeveldel, 2013).

Diagnóstico

Los signos clínicos no siempre son lo suficientemente claros como para asegurar el diagnóstico. Es importante realizar un buen diagnóstico diferencial previo tomando en cuenta todas las afecciones multisistémicas con signos clínicos similares que pueden afectar a cánidos, principalmente cachorros (Mahy y Reguenmortel, 2010).

- Hallazgos de laboratorio

Durante la infección aguda se puede observar linfopenia, trombocitopenia y monocitosis (Mahy y Reguenmortel, 2010). En etapas tempranas, examinando un frotis de sangre periférica, se puede encontrar inclusiones citoplasmáticas, las cuales también se las puede encontrar, aunque con menor frecuencia, en linfocitos circulantes, monocitos, neutrófilos y eritrocitos. El análisis bioquímico podría mostrar una disminución de la albumina y un aumento de α y γ -globulina en neonatos (Greene y Vandeveldel, 2013).

- Radiografía

Las radiografías torácicas, en la fase inicial de la enfermedad, muestran un patrón intersticial. En casos en los que se presentan infecciones bacterianas secundarias o bronconeumonía se observa un patrón alveolar (Greene y Vandeveld, 2013).

- Análisis de líquido cefalorraquídeo

En la encefalomiелitis subaguda o crónica producida por el Virus del Distemper Canino, se observa un aumento de proteínas mayor a 25 mg/dL y de células contables (> 10 células/ul, predominando linfocitos). Este aumento de proteínas es debido al aumento de inmunoglobulinas (Greene y Vandeveld, 2013). El aumento de anticuerpos contra el VDC encontrados en el LCR es evidencia definitiva de encefalitis causada por la infección, ya que estos anticuerpos no se encuentran en perros vacunados o que sufrieron enfermedad sistémica sin afección del SNC (Greene y Apple, 2008).

- Inmunocitología

En perros clínicamente afectados, se puede utilizar inmunofluorescencia en frotis citológicos de epitelio respiratorio, genital, conjuntival y tonsilas. También se puede realizar en células de LCR, sangre, sedimento urinario y medula ósea (Arlington, Mendes, Fernandes, Bracarense y Alcindo, 2012). Es posible obtener resultados falsos negativos al realizar la prueba luego de 3 semanas post infección (Greene y Apple, 2008).

- Inmunohistoquímica

Las técnicas inmunohistoquímicas utilizan fluorescencia y se las puede realizar a partir de tejidos tomados para biopsias o de tejidos post mortem (Greene y Apple, 2008). Estos métodos permiten detectar la presencia del antígeno viral, mientras el individuo se encuentra con vida, en un frotis de impresión en conjuntiva, linfocitos de sangre periférica, epitelio de las almohadillas plantares, mucosa nasal y piel del dorso del cuello. Además, post mortem se puede realizar el análisis con tejido del bazo, nódulos linfáticos, pulmones, estómago, intestino, tonsilas, cerebro y vejiga (Murphy, Gibbs, Horzinek, Studdert, 1999).

- Detección de anticuerpos en suero

La prueba de neutralización es el método de elección para cuantificar el título de anticuerpos contra el VDC. Los anticuerpos neutralizantes se dirigen contra las proteínas de membrana H y F. Estos aparecen entre los 10 – 20 días post infección y pueden persistir de por vida en un animal recuperado de la infección (Greene y Vandeveld, 2013). Las pruebas de inmunofluorescencia se pueden realizar a partir de muestras de conjuntiva, tonsilas, epitelio respiratorio, sedimento urinario o LCR (Lorenzana, 2008). Además, métodos como ELISA, se han utilizado para detectar el antígeno viral en suero o en LCR de animales afectados. Sin embargo, mediante esta técnica, es difícil encontrar el antígeno viral en fluidos corporales de perros con signos neurológicos con un escaso cuadro clínico o que se hayan recuperado de este (Greene y Vandeveld, 2013).

Tratamiento

No existe tratamiento antiviral específico para el VDC. A los animales infectados se les brinda tratamiento de soporte. Esto incluye fluido terapia, protectores gástricos y antieméticos. Además, está indicado el tratamiento con antibióticos para prevenir o tratar las infecciones bacterianas secundarias (Apple y Summers, 1999). En el caso de presentarse signos neurológicos, los sedantes y anticonvulsivos pueden mejorar los signos; sin embargo no tienen efecto curativo. Ocasionalmente se produce la recuperación de un paciente con signos neurológicos. Por lo general si estos son progresivos el paciente tiene mal pronóstico y se recomienda la eutanasia (Ettinger y Feldman, 2010).

Control y prevención

La prevalencia de la enfermedad disminuye cuando se aplican regímenes de vacunación. Para controlar el VDC y minimizar la amenaza en la conservación de animales silvestres, se debe identificar ciertos aspectos como: las poblaciones reservorio, los mecanismos por los cuales la infección se mantiene en estas poblaciones y las fuentes y rutas de transmisión hacia las poblaciones de interés (Woodroffe, 1999).

En el Ecuador la vacuna utilizada es la de virus vivo modificado, la cual ofrece una fuerte protección contra el VDC. No todas las vacunas producen el mismo nivel de protección contra la enfermedad. En muchas ocasiones, aumentar el nivel de protección significa aumentar la virulencia de la vacuna. Desafortunadamente, las vacunas más potentes han sido asociadas con enfermedad en especial en carnívoros silvestres o domésticos inmunocomprometidos. La Asociación Americana de Hospitales Animales recomiendan la vacunación de perros a partir de las 6-8 semanas de edad, con refuerzos realizados cada 3 semanas hasta las 16 semanas. Los animales deben recibir una

revacunación anual a lo largo de la vida del animal (Welborn *et al.*, 2011). La vacunación en animales con una pre exposición tendría poco o nulo efecto (Navarrete, 2008). La inmunidad adquirida post infección puede permanecer por años. Esta protección es adecuada siempre y cuando el individuo no se exponga a una alta cantidad del virus, a una cepa altamente virulenta o que se encuentre bajo estrés o un nivel de inmunosupresión (Greene y Vandeveld, 2013).

Parásitos encontrados en lobos de páramo en otros estudios

Debido al reconocimiento que tienen los lobos como hospedadores definitivos y diseminadores accidentales de varios parásitos, se han realizados diversos estudios parasitarios en esta especie en diferentes países de Suramérica (Ayala-Aguilar *et al.*, 2013; Stein, Suriano y Novaro, 1994; Mc Callum y Dobson, 1995; Aguilera, 2001; Fiorello, Robbins, Maffei y Wade, 2006; Jiménez *et al.*, 2012).

En un estudio realizado en Chile en *Lycalopex fulvipes*, de un total de 189 muestras fecales, se obtuvieron parásitos en únicamente 41 muestras. Se logró identificar parásitos como *Spirometra* sp., *Capilaria* sp., *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Filaroides osleri*, *Ancylostoma* sp., *Trichuris* sp., *Taenia* sp., e *Isoospora* sp. En otro estudio parasitológico en el cual se utilizó jaulas trampa, se logró capturar 5 individuos de la especie *Lycalopex gymnocercus* y se identificaron parásitos como *Angiostrongylus* sp., *Ancylostoma* sp. y *Spirometra* sp. (Fiorello, Robbins, Maffei y Wade, 2006). Otros estudios realizados en Chile en lobos del género *Lycalopex*, reportan la presencia de otros parásitos como *Unicaria stenocephala*, *Linguatula serrata*, *Sarcocystis* sp. y *Echinococcus granulosus* (Álvarez, 1960; Donoso, Skewes, Rubilar, Donoso y Brevis, 2000; Aguilera, 2001).

En un estudio realizado en Argentina, se muestrearon 129 heces de lobos de las cuales se encontraron parásitos en únicamente 5 muestras. Se encontraron nemátodos de 3 especies: *Physaloptera clausa*, *Toxocara leonina* y *Protospirura numídica creiceticola* (Stein, Suriano y Novaro, 1994). Por otra parte, se han realizado estudios en otros países como Bolivia, logrando identificar huevos de *Tenia* sp., *Toxocara* sp., *Trichuris* sp., *Ancylostoma* sp., *Strogilus* sp y coccidios (Moro *et al.*, 1998; Ayala-Aguilar *et al.*, 2013). Y en Perú se ha encontrado *Corynosoma obtuscens* en lobos (*Lycalopex culpaeus*) y en perros domésticos (Tantaleán, Mendoza y Riofrío, 2007).

En los estudios realizados se puede observar que el número de lobos de páramo parasitados es mínimo (Stein, Suriano y Novaro, 1994; Jiménez *et al.*, 2012; Scioscia, Beldomenico, Petrih, Pierangeli y Denegri, 2013). Esto puede deberse a que los artrópodos y roedores son los principales intermediarios de parásitos que afectan a esta especie, la baja predación de los lobos hacia estas presas podría explicar la baja carga parasitaria (Stein, Suriano y Novaro, 1994). Sin embargo, se pudo constatar que mientras más cerca está la comunidad en donde se encuentran perros asilvestrados, mayor es la prevalencia de parásitos en lobos (Jiménez *et al.*, 2012).

Parásitos encontrados en el presente estudio

Ancylostoma caninum

Generalidades

Ancylostoma sp. es un nemátodo del orden Strongylida, el cual puede afectar al perro y a carnívoros silvestres como el zorro, presentando un ciclo vital directo (Barr y Bowman, 2012). Se encuentra ampliamente distribuido, especialmente en zonas tropicales y de climas cálidos (Romero, 2007). El *A. caninum*, representa un riesgo en la salud pública debido a su potencial zoonótico (enteritis eosinofílica y larva migrante cutánea). Las infestaciones, generalmente en cachorros, pueden causar anemia severa y muerte (Zajac y Conboy, 2012).

Morfología

Los nemátodos como el *Ancylostoma*, son parásitos cilíndricos y sin segmentos, a excepción de los extremos que terminan en vértice. En su forma adulta, presenta su cavidad oral en forma de gancho, y por ello recibe el nombre en inglés de “hookworm” (López, Abarca, Paredes e Inzunza, 2006). Dentro del grupo de los “hookworms”, además de *Ancylostoma caninum*, también se encuentra el parásito llamado *Necator americanus* (Figura 5 y 6) (Parasites - Zoonotic Hookworm, 2012). Los huevos pueden identificarse según su contenido, forma, tamaño, color y estructura de la cascara. Estos tienen un tamaño de 52-79 x 28-58 μm (Zajac y Conboy, 2012).

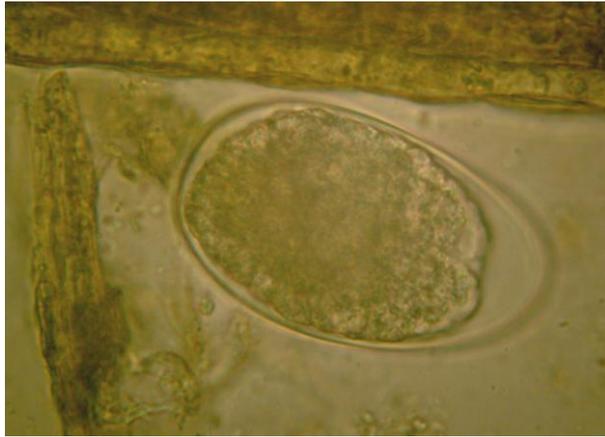


Figura 5. Huevo de *Ancylostoma caninum* encontrado en el examen coproparasitario de un perro capturado durante el presente estudio.

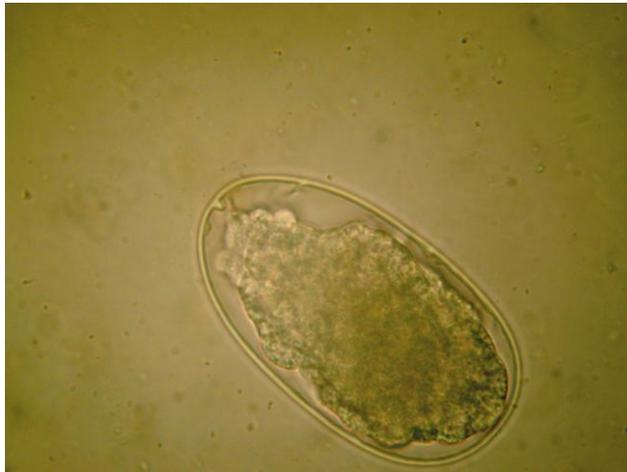


Figura 6. Huevo de *Necator americanus* encontrado en el examen coproparasitario de un perro capturado durante el presente estudio.

Vías de transmisión y contagio

Los huevos depositados por las hembras salen del hospedador junto con las heces, eclosionan y liberan una larva. Dentro de las heces se llevan a cabo tres estadios larvarios. En 1-2 días, eclosionan a larva fase 1 y después de 2 mudas (5-10 días) fase 3 (Parasites - Zoonotic Hookworm, 2012). En el tercer estadio, el huevo permanece cubierto por una vaina y se sitúa en los vegetales, logrando sobrevivir entre 3-4 semanas en un ambiente

favorable (Álvarez, Padilla, Cuesta,y Cuesta, 2003). Las larvas pueden penetrar al hospedador por vía percutánea o por ingestión (Álvarez, Padilla, Cuesta y Cuesta, 2003).

Si la larva penetra por la piel, avanza hasta un vaso sanguíneo o conducto linfático, por el cual llega hasta el corazón y desde ahí a los pulmones. De los pulmones, van a los alveolos, luego de los bronquios hasta la faringe, después al esófago y desde ahí al intestino, donde mudan a un cuarto estadio larvario y posteriormente a estado adulto (Álvarez, Padilla, Cuesta y Cuesta, 2003). Si la larva es ingerida, ingresa por la mucosa oral, invade las glándulas gástricas, permanece en ellas varios días y luego regresa a la luz intestinal, ahí muda a un cuarto estadio larvario y posteriormente a estado adulto (Álvarez, Padilla, Cuesta y Cuesta, 2003). Ya en fase adulta, excreta los huevos, los cuales se liberan con las heces de los perros. Por otro lado, si la larva penetra la piel de un humano, esta migra sin rumbo a través de la epidermis (Figura 7) (Parasites - Zoonotic Hookworm, 2012).

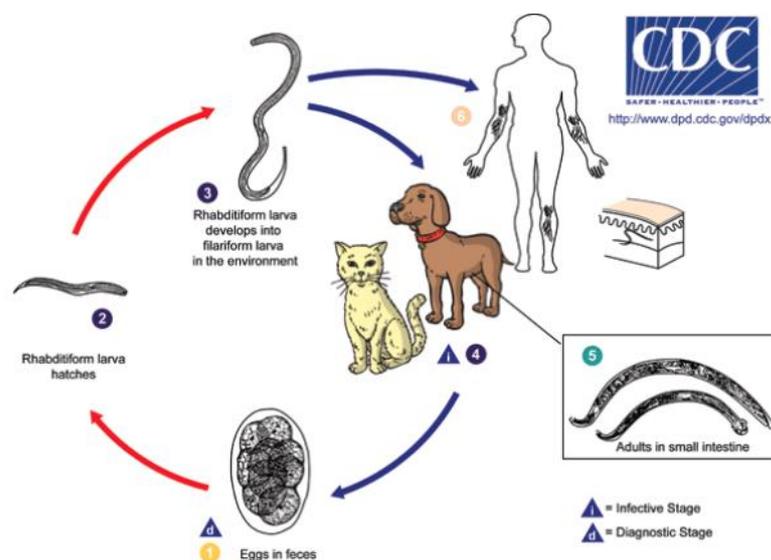


Figura 7. Ciclo biológico de *Ancylostoma caninum* (Parasites - Zoonotic Hookworm, 2012).

Trichuris vulpis

Generalidades

Trichuris vulpis es un nemátodo, del orden Enoplida, el cual se aloja en el ciego y en el intestino grueso de perros y cánidos silvestres (Whipworms in Small Animals, 2012; Zajac y Conboy, 2012). Se encuentra distribuido mundialmente y está considerado como el tercer parásito más común en humanos según el Centro de Control de Enfermedades y Prevención (Center of Disease Control and Prevention, CDC) (Whipworms in Small Animals, 2012).

Morfología

Los parásitos adultos miden entre 45-75 mm de largo, se caracterizan por tener su cuerpo dividido en dos porciones, su extremo anterior es delgado mientras que el posterior es más grueso. Los huevos tienen una coloración café, con polos claramente marcados y miden 72-90 x 32-40 μm (Figura 8) (Zajac y Conboy, 2012).

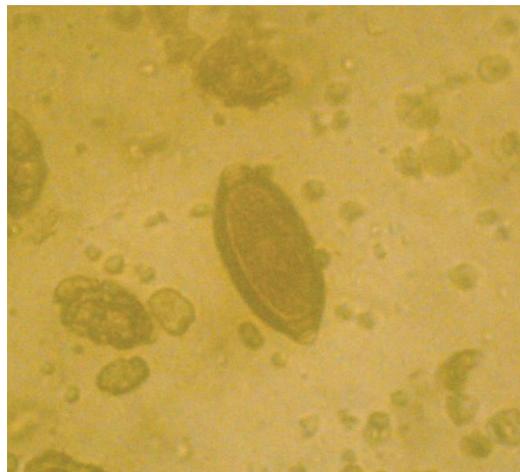


Figura 8. Huevo de *Trichuris vulpis* encontrado en el examen coproparasitario de un lobo de páramo (*Lucalopex culpaeus*) capturado durante el presente estudio.

Vías de transmisión y contagio

El hospedador se infecta al ingerir huevos embrionados que se encuentran en el ambiente (Whipworms in Small Animals, 2012). Estos eclosionan en el intestino delgado y posteriormente maduran en el intestino grueso. El parásito ya en estado adulto, deposita los huevos, los cuales son eliminados junto con las heces del huésped. Luego de tres semanas en el ambiente, los huevos alcanzan su estado infectivo (Figura 9) (Zajac y Conboy, 2012; Whipworms in Small Animals, 2012).

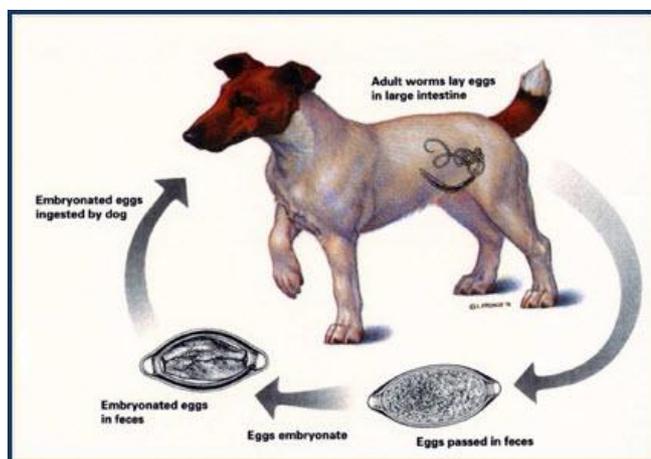


Figura 9. Ciclo biológico de *Trichuris vulpus*.

METODOLOGÍA

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el páramo de la hacienda Antisanilla, el cual tiene una extensión de 2,300 hectáreas y está ubicada a 4,000 msnm, en la parroquia Pintag, cantón Quito, provincia del Pichincha, Ecuador. Tiene un enfoque descriptivo, transversal y exploratorio. El lugar de estudio fue seleccionado debido a la previa observación con cámaras trampa de abundantes perros domésticos rurales y lobos de páramo. Durante un periodo de 7 meses se recolectaron un total de 19 muestras: 9 de lobos de páramo y 10 de perros domésticos rurales, los cuales fueron capturados mediante las jaulas trampa. Se utilizaron 2 jaulas trampa cuya ubicación fue $0^{\circ}26'58.73''\text{S}$, $78^{\circ}18'36.99''\text{W}$ y $0^{\circ}27'0.33''\text{S}$, $78^{\circ}18'58.50''\text{W}$, respectivamente (GoogleEarth).

Método de captura

Dentro de las jaulas se colocaba carnada, la cual consistía en pedazos de carne de bovino; esta era remplazada por una fresca cada 2 días. Las jaulas se revisaban todos los días para comprobar la presencia de animales. En el momento en el que un animal era capturado, se procedía a anestesiarlo con Ketamina (10 mg/kg) y Xilacina (0,5 mg/kg) intramuscular, el peso de cada individuo fue estimado mediante observación y en algunos casos se pudo obtener el peso exacto. Además, se marcó a cada individuo con eterol en el costado y se le colocó microchip en la zona escapular derecha para que en el caso de que un mismo individuo sea atrapado una segunda vez sea liberado inmediatamente.

Colecta, conservación y traslado de las muestras

Una vez anestesiado el animal se procedía a recolectar la muestras sanguínea y fecal. La sangre fue extraída con una jeringuilla de 10 ml de la vena cefálica, realizando una antisepsia previa con clorhexidina (Figura 10). La muestra de sangre fue colocada en un tubo sin anticoagulante (con tapón rojo) de 10 ml y en 2 tubos con EDTA (con tapón lila) de 1 ml y transportada inmediatamente en un cooler frío al Laboratorio del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias USFQ, para realizar el análisis serológico contra *Leptospira* sp., *Brucella canis* y Distemper canino. Por otro lado, las muestras de heces fueron tomadas mediante extracción manual, colocadas en frascos de plástico de 150 ml y trasladadas inmediatamente al laboratorio para su análisis (Figura 11). Para tener una idea más clara de la salud de cada individuo, la sangre obtenida también se utilizó para realizar hemogramas y bioquímicas sanguíneas.



Figura 10. Extracción de sangre de la vena cefálica en *Lycalopex culpaeus*.



Figura 11. Extracción manual de heces en *Lycalopex culpaeus*.

Laboratorio

Detección de anticuerpos contra *Leptospira* sp.

Para analizar anticuerpos IgG de *Leptospira*, se utilizó la prueba de inmunofluorescencia. Se analizó la presencia de anticuerpos contra las siguientes variedades de *Leptospira*: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canícola*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. gryppotyphosa* y *L. wolffi*.

Detección de anticuerpos contra *Brucella canis*.

Para detectar anticuerpos contra esta bacteria se utilizó el “*kit de prueba rápida Anigen® para anticuerpos contra C. Brucella*” el cual es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos de *Brucella canis* en sangre completa, plasma o suero.

En el kit se pueden ver las letras C (Línea de control) y T (Línea del Test). La línea de control siempre deberá estar marcada si los reactivos están correctos y la línea del Test se marcará cuando hayan anticuerpos contra *Brucella canis* en la muestra.

Para analizar las muestras se siguieron los siguientes pasos:

- Se removió el dispositivo del test de la bolsa de papel aluminio y se lo colocó en una superficie seca y plana.
- Se recolectó 10 µl de suero con el capilar hasta llegar a la línea marcada
- Se agregó los 10 ul del suero en el pozo del dispositivo
- Posteriormente se agregó en el mismo pozo 2 gotas del diluyente
- Se dejó transcurrir 10 minutos y se observaron los resultados
- La aparición de una raya púrpura sobre la T indica positividad para *Brucella canis*.

(Bionote, 2010a)

Detección de antígenos contra Distemper canino

Para la detección de antígenos contra Distemper canino se utilizó el “*Kit de test rápido de Anigen® para CDV Ag*”, el cual permite detectar antígenos a través de muestras de secreciones de conjuntiva, suero, plasma u orina. El kit es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno del virus del distemper canino. En el kit se pueden ver las letras C (Línea de control) y T (Línea del Test). La línea de control siempre deberá estar marcada si los reactivos están correctos y la línea del Test se marcará cuando hayan anticuerpos contra el virus de distemper canino en la muestra.

Para analizar las muestras se siguieron los siguientes pasos:

- Se recolectó el suero con el gotero
- Se agregaron 3 gotas del suero en el tubo para muestras que contiene 300 µl de diluyente.
- Se extrajo el dispositivo del kit de la bolsa de papel aluminio y se lo colocó en una superficie seca y plana.
- Se agregaron 4 gotas de la muestra mezclada en el orificio de la muestra usando el gotero
- Se dejó transcurrir entre 5-10 minutos y se observaron los resultados
- La aparición de una raya púrpura sobre la T indica positividad para Distemper canino.

(Bionote, 2010b)

Identificación y tipificación de parásitos gastrointestinales

El examen coproparasitario consiste en la observación macroscópica y microscópica de heces en busca de huevos, larvas o parásitos en fase adulta. En el laboratorio del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la USFQ, se procedió a realizar el examen microscópico de las heces obtenidas. Las muestras fueron sometidas a la técnica de flotación y de Mc Master para determinar el número de huevos por gramo de heces. Esta técnica también se utiliza para larvas de nemátodos y ooquistes de coccidios. Las 2 técnicas fueron realizadas conjuntamente.

Para la técnica de flotación se procedió a:

- Colocar en vasos plásticos de 30 ml, aproximadamente 3 gramos de la muestra con 15 ml de solución glucosada saturada, y se disolvió.

- Luego se coló y exprimió el sedimento en un tubo de ensayo.
- Posteriormente se centrifugó durante 10 minutos a 2000 rpm.
- Se colocó más solución glucosada hasta formar un menisco convexo, se aplicó un cubre objetos y se lo dejó reposar durante 10 minutos.
- Luego, se puso el cubre objetos sobre un porta objetos para así poder visualizar la muestra en el microscopio a 10x y 40x, e identificar los huevos o larvas de parásitos gastrointestinales (Figura 12).
- Se tipificaron los parásitos encontrados de acuerdo a su morfología. (Sixtos, 2010).
- Para mejores resultados se repitió el proceso 2 veces para cada muestra (Martínez-Barbosa, Gutierrez, Alpizar y Pimienta, 2008).

Por otro lado, para la técnica de Mc Master:

- Se tomó la muestra preparada con anterioridad en el vaso plástico, se la coló y exprimió nuevamente el sedimento en otro tubo de ensayo.
- La cámara de Mc Master fue humedecida con agua corriente para evitar la presencia de burbujas.
- Posteriormente, se tomó con una pipeta el sobrenadante de la solución y se llenó la cámara de Mc Master.
- Luego de esperar unos minutos, se observó al microscopio y se realizó el conteo de los huevos separándolos por género parasitario (Figura 12)
- Para el cálculo del recuento se utilizará la siguiente fórmula:

$$\text{Huevos por gramo: } \frac{\text{Recuento total} \times 100}{\# \text{ de cámaras}}$$

- Para mejores resultados se repitió el proceso 2 veces para cada muestra.

(Sixtos, 2010).

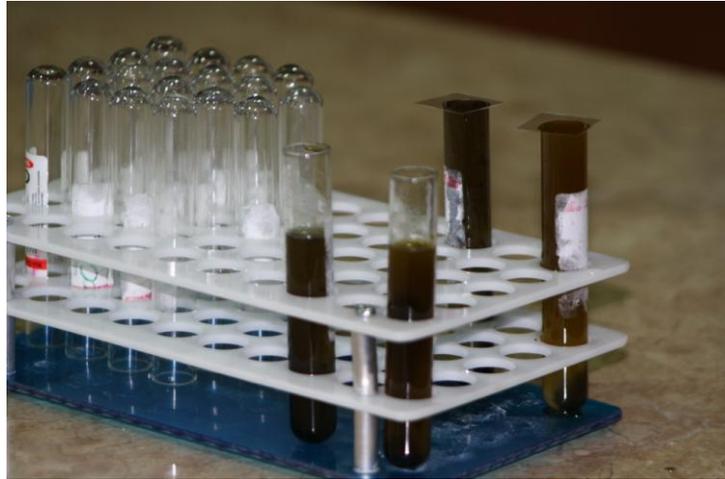


Figura 12. Preparación de las muestras fecales de un mismo individuo mediante la técnica de flotación y mediante la técnica de Mc Master (2 por cada técnica).

RESULTADOS

Tabla 1. Resultados de las pruebas serológicas realizadas a los nueve lobos de páramo (*Lycalopex culpaeus*).

Número de animal	Anticuerpos contra <i>Leptospira</i>	Anticuerpos contra <i>Brucella canis</i>	Antígenos contra Virus del Distemper canino
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	+	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-

Negativo (-); Positivo (+).

Fuente: LabVet USFQ

Realizado por: Autora

Examen coproparasitario

Tabla 2. Resultados coproparasitarios obtenidos mediante prueba de flotación de Mc Master en lobos de páramo (*Lycalopex culpaeus*) y perros domésticos (*Canis familiaris*).

Animales	Técnica de Flotación	Método de Mc Master	
Perros domésticos (<i>Canis familiaris</i>)	1	-	
	2	-	
	3	-	
	4	<i>Ancylostoma caninum</i>	
	5	-	<i>Necator americanus</i>
	6	-	-
	7	-	-
	8	-	-
	9	-	-
	10	-	-
Lobos de Páramo (<i>Lycalopex culpaeus</i>)	1	-	
	2	-	
	3	-	
	4	-	
	5	-	<i>Trichuris vulpis</i>
	6	-	-
	7	-	-
	8	-	-
	9	<i>Ancylostoma caninum</i> <i>Coccidios</i>	<i>Ancylostoma caninum</i> (25 huevos/gramo de heces)

(-) negativo

Fuente: LabVet USFQ

Realizado por: Autora

DISCUSIÓN

Las muestras se recolectaron en la hacienda Antisanilla durante un periodo de 7 meses (agosto 2014 - marzo 2015). Se realizaron las distintas pruebas serológicas para la detección del antígeno del Virus del Distemper Canino y anticuerpos contra *Brucella canis* y *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canícola*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. gryppotyphosa* y *L. wolffi* en *Lycalopex culpaeus* atrapados mediante jaulas trampa. Se capturó un total de 9 lobos (n=9) en los que no se detectó antígenos contra el Virus del Distemper Canino (VDC) ni anticuerpos contra ningún serovar de *Leptospira*. Sin embargo, se obtuvo un resultado positivo con la prueba de detección de anticuerpos contra *Brucella canis* (Lobo de páramo número 3). Las consecuencias de un individuo sospechoso son el impacto que la enfermedad puede tener en mamíferos silvestres y el rol como reservorio.

Los resultados concuerdan con los hallados por Azevedo *et al.*, (2009) y Martino *et al.*, (2004) en los cuales no se encontraron *Lycalopex sp* positivo a *Leptospira sp.* ni tampoco al VDC respectivamente. Contrariamente a lo descrito por Kingscote (1986) el cual reporta anticuerpos contra *Leptospira* serovar *pomona* en 6% de zorros (*Vulpes vulpes*) muestreados en Ontario. Por otro lado, también se observaron resultados positivos contra el VDC en *Lycalopex sp.*, (Moreira y Stutzon, 2005; Huñbner *et al.*, 2010; Megid *et al.*, 2010). Acosta-Jamett *et al.*, (2014) encontró una seroprevalencia de 42% en esta especie. Los resultados negativos para el VDC y *Leptospira sp.* podrían sugerir que los lobos no se encuentran expuestos a estas enfermedades, que no son susceptibles a la misma o que la enfermedad no se encuentra diseminada en el área de estudio. La población de lobos de páramo es demasiado pequeña como para mantener una enfermedad y luego del brote el agente podría desaparecer. Sin embargo, la muerte ocasionada por una enfermedad

infecciosa como lo es el distemper canino podría afectar seriamente a toda la población (Cleverland *et al.*, 2002).

El hallazgo positivo contra *B. canis* es de suma importancia ya que no se encontró ningún otro estudio a nuestro alcance en el cual se hayan encontrado anticuerpos contra esta enfermedad en *Lycalopex culpaeus*. Al contrario de lo observado por Fuchs *et al.* (2009) en donde se obtuvo 100% de resultados negativos de anticuerpos contra *B. canis* en *Lycalopex gymnocercus*, mediante la Prueba de Aglutinación en Placa. Es importante mencionar que no existen pruebas específicas para la detección de *Brucella* sp. en animales silvestres. Estudios de esta infección en cánidos silvestres son escasos, especialmente en Ecuador.

Si el lobo de páramo realmente padeciera la enfermedad, podría afectar significativamente a la población de su especie en el sector, debido a que la sintomatología clínica se asocia principalmente con *B. canis* (Ruíz, Giraldo, López y Chica, 2008). Un solo individuo podría diseminar la enfermedad ya que la transmisión se da por monta, contacto oronasal o ingestión de tejidos o fluidos contaminados (Hollett, 2006). El principal signo es el aborto, lo que influiría significativamente en la población de *Lycalopex culpaeus*. Además, debido a la diseminación intermitente de la bacteria un solo individuo podría transmitir la enfermedad a muchos otros por un largo periodo de tiempo. Se debe considerar el pequeño tamaño de la muestra (n=19) y el tiempo de recolección de las mismas, por lo que se deberían realizar otros estudios para confirmar los resultados.

La serología es la técnica estándar para la vigilancia epidemiológica de brucelosis; sin embargo, se pueden obtener resultados falsos positivos debido a las reacciones

cruzadas entre las especies de *Brucella* y otras bacterias gram negativas (Antunes *et al.*, 2010). A pesar de esto, el kit de diagnóstico de anticuerpos de *Brucella canis* presenta una sensibilidad de 93% y una especificidad de 100% contra cultivo sanguíneo. Sin embargo, no se puede considerar como un diagnóstico definitivo, sino al contrario como un sospechoso, ya que no se realizó un cultivo sanguíneo ni tampoco se capturó al animal para observar una posible sintomatología clínica. Debido al 100% de especificidad se podría decir que todos los animales negativos, son verdaderamente negativos. Sin embargo, el 93% de sensibilidad sugiere que el 7% de resultados positivos, podrían no ser verdaderamente positivos. Lo recomendable en este caso habría sido realizar la prueba dos veces más con una diferencia de un mes por cada prueba, pero al no tener en cautiverio al espécimen esto no pudo ser posible.

El examen bioquímico y hematológico no se altera en infecciones con brucelosis (Hollett, 2006), ya que el género *Brucella* es un patógeno intracelular estricto, por lo tanto estas pruebas no servirían para confirmar o descartar la positividad del resultado obtenido en el presente estudio. Cuando la enfermedad es crónica se puede observar hipoalbuminemia; sin embargo, el valor obtenido de albumina en el lobo de páramo número 3 fue de 44,1 g/L, el cual se encuentra dentro del rango obtenido en el resto de animales (22,8 - 44,1 g/L).

Resultados falsos negativos también se pueden obtener mediante las pruebas serológicas debido a que la respuesta inmune depende de la fase de la infección durante la toma de muestras (Antunes *et al.*, 2010). Además, en casos de enfermedad crónica los anticuerpos pueden descender a niveles indetectables debido a que *Brucella* sp., permanece intracelularmente (Tittarelli *et al.*, 2004). El uso de pruebas serológicas en animales

silvestres es controversial, no está claro como las inmunoglobulinas de estos animales actúan con las pruebas serológicas y desafortunadamente, no hay estudios de la patogénesis ni de la respuesta inmune de *Brucella* sp.

El diagnóstico definitivo se basa en aislamiento bacteriológico, evidencia serológica y la presencia de signos clínicos. La prueba serológica utilizada con frecuencia es la prueba de aglutinación; sin embargo, la baja sensibilidad limita su uso. Por otro lado se puede obtener un resultado falso negativo mediante cultivo bacteriológico ya que la bacteria es eliminada de manera intermitente. Es por estos motivos y debido a la alta sensibilidad y especificidad que posee, que se seleccionó la prueba comercial para la detección de anticuerpos contra *B. canis*. Trabajos realizados por Animal Genetics (Antigen), donde comparan métodos diagnósticos en 742 animales mediante pruebas diagnósticas de 2β-mercaptoetanol (34.2%), hemocultivo (24.4%) y Kit Antigen inmunoensayo cromatográfico (34.9%), no encontraron diferencias estadísticamente significativas (Valderrama y Delgado, 2013). Otra ventaja del uso de esta prueba comercial es la rápida obtención de resultados (20 minutos).

Los perros domésticos son reservorio de muchas enfermedades infecciosas y representan un potencial riesgo de infección hacia las poblaciones de cánidos silvestres (Proença *et al.*, 2013). Debido a que *B. canis* afecta únicamente a cánidos silvestres y domésticos (Greene y Vandeveld, 2013), se puede inferir que la brucelosis en los lobos proviene de perros domésticos que a pesar de la mayoría tener dueño, deambulan libremente.

El estrecho contacto entre ambas especies podría tener como consecuencia la exposición a las mismas enfermedades. En estudios realizados en perros domésticos que deambulan libremente se encontró una seroprevalencia de *B. canis* del 6.78% en Colombia (Ruiz, Giraldo, López y Chica, 2008), 7.3% y 30.5% en Argentina (Myers y Varela-Días, 1980; Boeri *et al.*, 2008) y 11.8% en México (Flores-Castro, Suárez, Ramírez-Pfeiffer y Carmichael., 1977). La importancia de estos resultados radica en la presencia de la enfermedad en poblaciones de perros domésticos rurales, lo que representa un riesgo de contagio para poblaciones de lobos de páramo con los cuales comparten su hábitat. El número de lobos muestreados, sin embargo, era demasiado pequeño como para determinar que las enfermedades provienen de las poblaciones de perros domésticos rurales que deambulan por el páramo. Además, de que desafortunadamente no se realizaron las pruebas serológicas de estas enfermedades a los perros capturados.

Según los archivos fotográficos obtenidos mediante la colocación de cámaras trampa en la hacienda Antisanilla, se pudo observar cierto temor de los lobos de páramo hacia los perros domésticos. Las imágenes muestran a lobos de páramo huir momentos antes de que perros domésticos se acerquen a la carroña y luego de que estos se hayan alimentado y se alejen del alimento los lobos nuevamente se aproximan a la misma carroña para continuar con su alimentación. Es precisamente en estos encuentros en donde las enfermedades podrían ser transmitidas.

En cuanto al resultado coproparasitario realizado a los lobos de páramo (n=9) y a los perros domésticos (n=10) capturados durante el estudio. Se puede decir que tanto los lobos como los perros presentan una carga parasitaria baja, excepto el último lobo capturado en el cual se observa un alto número de huevos de *Ancylostoma caninum* (25

huevos/gr de heces), además de huevos de coccidios. En el examen coprológico de los perros domésticos se encontró *Ancylostoma caninum* y *Necator americanus*. Sin embargo, la carga parasitaria era realmente baja, ya que únicamente se encontró un huevo de cada especie. En cuanto al examen coprológico de los lobos, de igual manera, se encontró únicamente un huevo de *Trichuris vulpis*, con excepción del lobo N° 9.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los observados en otros estudios en los cuales reportan una carga parasitaria baja en *Lycalopex culpaeus* (Stein, Suriano y Novaro, 1994; Ayala-Aguilar *et al.*, 2013). Jiménez *et al.*, (2012) reporta endoparásitos en el 21,2% de animales muestreados. Parásitos como *Ancylostoma caninum* se encuentra presente tanto en lobos de páramo como en los perros domésticos rurales, lo cual concuerda con estudios realizados en Perú donde ambas especies presentan este parásito (Sarmiento, Tantaleán y Huiza, 1999). Al contrario de lo encontrado en el presente estudio, Jiménez *et al.* (2012) no encuentra ningún huevo de *Ancylostoma caninum* en *Lycalopex fulvipes* muestreados. Sin embargo, el 1.1% de individuos presentaron huevos contra *Trichuris vulpis*.

La evaluación sobre la carga parasitaria es un componente importante de los planes de evaluación de la salud de sitios específicos donde habitan los lobos. El estado parasitario es importante para determinar la salud de las poblaciones de animales silvestres y es mucho más importante aún si estos animales tienen contacto con animales domésticos (Fiorello, Robbins, Maffei y Wade, 2006). Los perros domésticos que deambulan libremente, debido a su habilidad para recorrer grandes distancias, pueden diseminar parásitos gastrointestinales a lo largo de varios km (Bronson, Emmons, Murray, Dubovi y Deem, 2008).

Los perros domésticos al recibir poca o nula atención sanitaria, como desparasitaciones y vacunaciones, deberían poseer una alta carga parasitaria (Jiménez *et al.*, 2012), lo que no concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio. Esto podría deberse a que los perros posiblemente no bajan hacia las comunidades cercanas y permanecen únicamente en el páramo donde su baja densidad poblacional, un amplio terreno y un ambiente poco favorable evita la infestación de parásitos tanto en perros como en lobos. Es por esta razón, que a pesar de estrecho contacto y la alta probabilidad de transmisión de endoparásitos entre ambas especies, el 94,7% de animales no presentan ningún parásito o tienen una carga parasitaria baja.

Estudios demuestran que existe una mayor prevalencia de endoparásitos en lobos de páramo durante el invierno (Jiménez *et al.*, 2012). A pesar de que en el Ecuador las estaciones no están estrictamente marcadas, se habla acerca de dos estaciones (seca y húmeda). La estación seca va de Septiembre a Diciembre; sin embargo, durante el periodo de estudio las lluvias empezaron a partir de Marzo. Esto podría ser uno de los factores que influyó a que únicamente el último individuo capturado presente una alta carga parasitaria.

Otro factor que pudo haber influenciado es la edad del animal. El lobo de páramo número 9, fue el único cachorro capturado. Se estima que tenía aproximadamente entre 6-8 meses. La presencia de parásitos, sobre todo nemátodos, es más común en animales jóvenes que en adultos (Oliveira, Amarante, Ferrari y Nunes, 2002), debido al desarrollo paulatino de inmunidad contra estos parásitos (Cruz *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Los lobos de páramo (*Lycalopex culpaeus*) no presentaron antígenos contra el VDC, ni anticuerpos contra *Leptospira* sp. Sin embargo, se obtuvo un resultado positivo de anticuerpos contra *Brucella canis*, lo que marca a este individuo como sospechoso.

El examen coproparasitario mostró que el 94,7% de animales muestreados (n=19) no presentaban ningún parásito o tenían una carga parasitaria baja. El único endoparásito en común entre lobos y perros fue *Ancylostoma caninum*. Solamente uno de los individuos muestreados (*Lycalopex culpaeus* # 9) presentó varios tipos de parásitos entre estos coccidios; además, de un alto número de huevos de *Ancylostoma caninum* (25 huevos/gr de heces).

RECOMENDACIONES

La posible transmisión de *B. canis* hacia *Lycalopex culpaeus* pudo provenir de perros domésticos rurales. Por lo que es recomendable controlar la tasa de natalidad en poblados cercanos, realizando esterilizaciones al mayor número de individuos posibles en las zonas de influencia. También se puede realizar charlas educativas acerca de la tenencia responsable de mascotas, con lo que se intentaría reducir la adquisición de perros por parte de las familias, la implementación de medidas profilácticas en sus animales de compañía (esterilizaciones, vacunaciones y desparasitaciones), evitar que estos deambulen libremente y que muchos sean abandonados en los páramos. Sería importante realizar a futuro pruebas serológicas contra estas enfermedades a los perros domésticos del sector.

Además, existe la opción de una eliminación controlada, que para el caso de perros domésticos no es una práctica ética ni aceptable, salvo que representen un potencial riesgo para los recursos naturales y la salud pública. Por otra parte, es recomendable realizar el estudio con un mayor número de animales y durante un periodo más largo de tiempo para descartar o comprobar que la estacionalidad es un factor para el aumento de carga parasitaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Jamett, G. (2009). The role of domestic dogs in diseases of significance to humans and wildlife health in central Chile. *University of Edinburgh*.
- Acosta-Jamett, G., Cleaveland, S., Cunningham, A., & Bronsvort, M. (2010). Demography of domestic dogs in rural and urban areas in Coquimbo region of Chile and its implication for diseases transmission. *Preventive Veterinary Medicine*. 272–281.
- Acosta-Jamett, G., Chalmers, W., Cunningham, A., Cleverland, S., Handel, I., & Bronsvort, M. (2011). Urban domestic dog populations as a source of canine distemper virus for wild carnivores in the Coquimbo region of Chile. *Veterinary Microbiology*. 247-257.
- Acosta-Jamett, G., Cunningham, A., Bronsvort, M., & Cleverland, S. (2014). Serosurvey of canine distemper virus and canine parvovirus in wild canids and domestic dogs at the rural interface in the Coquimbo Region, Chile. *European Journal of Wildlife Research*.
- Acton, Q. (2012). *Issues in General Science and Scientific Theory and Method*. Scholarly Editions. 3278.
- Adler, B., & de la Peña, A. (2010). Leptospira and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 287-296.

- Aguilera, J. (2001). Estudio preliminar de equinococosis y helmintiasis gastrointestinal en zorro gris (*Pseudalopex griseus*) silvestre de Tierra del Fuego, Chile. *Memoria de Título, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.*
- Ahmad, S., Shah, S., & Ahmad, F. (2005). Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine.* 195- 200.
- Albuja, L., & Arcos, R. (2007). Lista de mamíferos actuales del Ecuador. *Politécnica-Biología,* 7-33.
- Aliaga, E., Rios, B., & Ticona, H. (2012). Amenaza de perros domésticos en la conservación del cóndor, el zorro y el puma en las tierras altas de Bolivia. *Revista Latinoamericana de conservación,* 78-81.
- Alton, G., Berke, O., Reid-Smith, R., Ojkic, D., & Prescott, J. (2008). Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1999-2006. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 167-175.
- Alvarez, V. (1960). Presencia de *Linguatula serrata* Froelich, 1789, en *Dusicyon culpaeus* y de formas ninfales en *O. d. degus* y *A. b. bennetti*. *Boletín Chileno de Parasitología,* 15-22.
- Álvarez, F., Padilla, F., Cuesta, A., & Cuesta, A. (2003). Zoología aplicada. *Ediciones Días de Santos.* 42.
- Anderson, R., & May, R. (1992). *Infectious diseases of humans: Dynamics and Control.* Oxford Science Publications. 757.

- Andre-Fontaine, G., Aviar, F., Marie J.L., & Chatrenet, B. (2015). Undiagnosed leptospirosis cases in naïve and vaccinated dogs: Properties of a serological test based on a synthetic peptide derived from Hap1/LipL32 (residues 154–178). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*.
- Antunes, J., Machado, G., Costa, L., Fornazari, F., Cipriano, J., Appolinário, C., Allendorf, S., Bagagli, E., Teixeira, C., & Megid, J. (2010). Comparison of infection by *Brucella* spp. in free-ranging and captive wild animals from São Paulo State, Brazil. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 654-658.
- Apple, M., & Summers B. (1999). Distemper canino: estado actual. Recent Advances in Canine Infectious Diseases. *International Veterinary Information Service*. Recuperado de: http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/appel_es/ivis.pdf
- Arlington, S., Mendes, A., Fernandes, A., Bracarense A.P., & Alfieri, A. (2012). Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus-induced infections in Brazil: a review. *Ciencias Agrarias, Londrina*. 1945-1978.
- Ayala-Aguilar, G., Nallar, R., Alandia, E., Limachi, R., Mollericona, J., & Crespo, G. (2013). Parásitos intestinales del zorro andino (*Lycalopex culpaeus*, Canidae) en el valle Acero Marka de los Yungas (La Paz, Bolivia). *Ecología en Bolivia*, 104-108.
- AzevedoI, S., Rodrigues, M., De Sousa, C., De Barros, A., Arruda, S., & Alves, C. (2009). Detection of anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* and anti *Leptospira* spp.

Antibodies in hoary foxes (*Pseudalopex vetulus*) from semi-arid of Paraíba state, Northeastern region of Brazil. *Ciencia rural*.

Barr, S., & Bowman, D. (2012). *Canine and feline infectious diseases and parasitology*. Segunda edición. Willey Black-Well. 309.

Beineke, A., Puff, C., Seehusen, F., & Baumgartner, W. (2009). Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1-18.

Bharti, A., Nally, J., Ricaldi, J., Matthias, M., Diaz, M., Lovett, M., Levett, P., Gilman, R., Willig, M., Gotuzzo, E., & Vinetz, J. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*. 757-771.

BioNote (a). (2010). *Kit de Prueba Rápida Anigen para Anticuerpos contra C. Brucella*.

BioNote (b). (2010). *Kit de Prueba Rápida Anigen para CDV Ag*.

Boeri, E., Escobar, G., Ayala, S., Sosa-Estani S., & Lucero, N. (2008). Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. *Medicina*. 291-297.

Boutillier, P., Carr, A., & Schulman, R. (2003). Leptospirosis in Dogs: A Serologic Survey and Case Series 1996 to 2001. *Veterinary Therapeutics*. 178-187.

Briseño, H., Páramo, R., Flores, R., & Suárez, F. (2004). Problemas reproductivos en perros machos infectados con *Brucella canis*. *Veterinaria México*. 121-128.

Briceño, C. (2010). Progress Report on Project Titled: Assessing genetic diversity and disease susceptibility in the endangered Fueguinean culpeo fox (*Pseudalopex culpeo*

lycooides) in Tierra del Fuego, Chile. *Primate Immunogenetics and Molecular Ecology Research Group*.

Bronson, E., Emmons, L., Murray, S., Dubovi, E., & Deem, S. (2008). Serosurvey of pathogens in domestic dogs on the border of Noel Kempff Mercado National Park, Bolivia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28-36.

Cabrera, R., Rojas, R., & Davalos, M. (1999). *Corynosoma obtuscens* Lincicome, 1943 (Acanthocephala: polymorphidae) en *Canis familiaris* de la ciudad de Chíncha, Perú. *Parasitología al Día*, 59-61.

Campos, C., Esteves, C., Ferraz, K., Crawshaw, P., & Verdade, L. (2007). Diet of free-ranging cats and dogs in a suburban and rural environment, south-eastern Brazil. *Journal of Zoology*, 14-20.

Carmichael, L. (1990). *Animal Brucellosis*. Boca Raton. CRC Press.

Castro, M., & Martínez, R. (2004). Proceso del desarrollo de *Corynosoma obtuscens* (Acanthocephala: Polymorphidae) en *Canis familiaris* y su posible implicancia en salud pública. *Parasitología Latinoamericana*, 26-30.

Chappel, R., Goris, M., Palmer, M., & Hartskeerl, R.,. (2004). Impact of proficiency testing on results of the microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 5484-5488.

Cleaveland, S., Appel, M., Chalmers, W., Chilingworth, C., Kaare, M., & Dye, C. (2000). Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary Microbiology*, 217-227.

- Cleaveland, S., Laurenson, M., & Taylor, L. (2001). Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 991–999.
- Cleaveland, S., Hess, G., Dobson, A., Laurenson, M., McCallum, H., Roberts, M., & Woodroffe, R. (2002). *The role of pathogens in biological conservation*. En: Hudson PJ, eds. *The Ecology of Wildlife Diseases*. New York: Oxford University Press. 139-150.
- Costamagna, S., García, S., Visciarelli, E. y Casas, N. (2002). Epidemiología de las parasitosis en Bahía Blanca, Buenos Aires. *Parasitología Latinoamericana*, 103-110.
- Cruz, L., Chávez, A., Falcón, N., Fernández, V., Huamán, H., Li, O., & Huanca, W. (2012). Helminthiasis Gastrointestinal en perros pastores de comunidades ganaderas de Puno, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 72-79.
- Daszak, P., Cunningham, A., & Hyatt, A. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science*. 443-449.
- Davidson, R., Romig, T., Jenkins, E., Tryland, M., & Robertson, L. (2012). The impact of globalisation on the distribution of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*. 239–247.
- Deem, S., & Emmons, L. (2005). Exposure of free-ranging maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) to infectious and parasitic disease agents in the Noel Kempff Mercado National Park, Bolivia. *Journal of zoo and wildlife medicine*, 192-197.

- Del Puerto, H., Vasconcelos, A., Moro, L., Alvares, F., Braz, G., & Martins A. (2010). Canine distemper virus detection in asymptomatic and non vaccinated dogs. Scielo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 132-138
- Dellagostin, O., Grassmann, A., Hartwig, D., Félix, S., Da Silva, E., & McBride, A. (2011). Recombinant vaccines against leptospirosis. *Human Vaccines*. 1215-1224.
- Dobson, A., & Hudson, P., (1995). *Microparasites: Observed patterns in wild animal populations*. En: Ecology: of infectious diseases in natural populations. Cambridge University Press, Cambridge. 52-89.
- Dobson, A., & Foufopoulos, J. (2001). Emerging infectious pathogens of wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 1001-1012.
- Donoso, R., Skewes, O., Rubilar, L., Donoso, S., & Brevis, C. (2000). Estudio histopatológico de *Sarcocystis* sp. en el intestino delgado de zorro gris (*Pseudalopex griseus*) de Tierra del Fuego, Chile. *XI Congreso Chileno de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile*.
- Eisenberg, J., & Redford, K. (2000) Mammals of the neotropics: Ecuador, Bolivia, Brazil. *University of Chicago. Vol. 3*.
- Ellis, W., (2010). Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change?. *Veterinary Record*. 602-605.
- Ettinger, S., & Feldman, E. (2010). *Veterinary internal medicine*. USA. Elsevier.

- Fiorello, C., Deem, S., Gompper, M., & Dubovi, E. (2004). Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the border of Madidi National Park, Bolivia. *Animal Conservation*, 45–54.
- Fiorello, C., Robbins, R., Maffei, L., & Wade, S. (2006). Parasites of free-ranging small canids and felids in the bolivian chaco. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 130-134.
- Flores-Castro, R., Suárez, F., Ramírez-Pfeiffer, C., Carmichael, L. (1977). Canine brucellosis: bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in México City. *Journal of Clinical Microbiology*. 591-597.
- Fuch, L., Baldone, V., Fort, M., Rojas M.C., Samartino, L., & Giménez, H. (2009). Brucelosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 227-231.
- Fulford, G., & Roberts, M. (2002). The Metapopulation Dynamics of an Infectious Disease: Tuberculosis in Possums. *Theoretical Population Biology*. 15–29
- Garde, E., Pérez, G., Acosta-Jamett, G., & Bronsvort, B. (2013). Challenges encountered during the veterinary disaster response: an example from Chile. *Animals*. 1073-1085.
- Geisen, V., Stengel, C., Brem, S., Muller, W., Greene, C., & Hartmann, K. (2007). Canine leptospirosis infections – clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups. (42 cases). *Journal of Small Animal Practice*. 324.328.

- González, D., Ortega, R., Rivera, P., & Cabello, J. (2003). A presumed case of canine distemper in a gray fox (*Pseudalopex griseus*) from central Chile. *Zeitschrift Fur Jagdwissenschaft*. 323–326.
- Gompper, M., (2014). The dog human wildlife interface: assessing the scope of the problem. In: Gompper, M.E. (Ed.), *Free-Ranging Dogs and Wildlife Conservation*. Oxford University Press, Oxford, pp. 9–54.
- Gouveia, A., Magalhães, H., & Ribeiro, A. (1987) Cinomose canina: ocorrência em animais vacinados e distribuição por faixa etária. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 539-545.
- Greene, C., & Appel M. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. Buenos aires. Inter-médica.
- Greene, C. & Vandeveld, M. (2013). *Infectious disease of the dog and cat*. Miami: Elsevier
- Grenfell, B., Bjornstad, O., & Kappey, J. (2001). *Travelling waves and spatial hierarchies in measles epidemics*. *Nature*. 716-723.
- Hare, B., Brown, M., Williamson, C., & Tomasello, M. (2002). The domestication of social cognition in dogs. *Science*, 1634-1636.
- Hanski, I., & Gilpin, M. (1997). *Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution*. 1a ed. San Diego: Academic Press. 513.

- Haydon, D., Laurenson, M., & Sillero-Zubiri, C. (2002). Integrating epidemiology into population viability analysis: managing the risk posed by rabies and canine distemper to the Ethiopian wolf. *Conservation Biology*. 1372-1385.
- Hoff, G., & Nichols, J. (1974). Canine brucellosis in Florida: serologic survey of pound dogs, animal shelter workers and veterinarians. *Animal Journal of Epidemiology*. 100-135.
- Hollett, R. (2006) Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology*. 575-587.
- Huñner, S., Geraldés, P., Lopes, J., D'Ávila G., Fischer G., & Vidor T. (2010). Exposure of pampas fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the Southern region of Brazil to Canine distemper virus (CDV), Canine parvovirus (CPV) and Canine coronavirus (CCoV). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 593-597.
- Jaramillo, C., & Martínez J. (2010). Epidemiologia Veterinaria. *Manual moderno*. 21.
- Jiménez, J., Yáñez, J., Tabilo, E., & Jaksic, F. (1995). Body size of Chilean foxes: a new pattern in light of new data. *Acta Theriologica*, 321–326.
- Jiménez, J., Yáñez, J., Tabilo, E., & Jaksic, F. (1996). Niche-complementarity of South America foxes: reanalysis and test of hypothesis. *Revista Chilena de Historia Natural*, 113-123.

- Jiménez, J., Briceño, C., Alcaíno, H., Vásquez, P., Funk, S., & González-Acuña, D. (2012). Coprologic survey of endoparasites from Darwin's fox (*Pseudalopex fulvipes*) in Chiloé, Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 93-97.
- Johnson, W., & Franklin, W. (1994). Role of body size in the diets of sympatric gray and culpeo foxes. *J. Mammal*, 163-174.
- Kapil, S., Allison, R., Johnston III, L., Murray, B., Holland, S., Meinkoth, J., & Johnson, B. (2008). Canine distemper virus strains circulating among North American dogs. *Clinical and Vaccine Immunology*. 707-712.
- Keeling, M., & Grenfell, B. (1997). Disease extinction and community size: Modeling the persistence of measles. *Science*. 65-67.
- Kingscote, B. (1986). Leptospirosis in red foxes in Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*. 475-478.
- Kohn, B., Steinicke, K., Arndt, G., Gruber, A., Guerra, B., Jansen, A., Kaser-Hotz, B., Klopfleisch, R., Lotz, F., Luge, E., Nöckler, K. (2010). Pulmonary abnormalities in dogs with leptospirosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1277-1282.
- Knobel, D., Butler, J., Lembo, T., Critchlow, R., & Gompper, M. (2014). Dogs, disease, and wildlife. En: Gompper ME, eds. *Free-ranging dogs and wildlife conservation*. 1ra ed. Oxford: *Oxford University Press*.144-169.
- Knobel, D., Cleaveland, S., Coleman, P., Fèvre, E., Meltzer, M., Miranda, M., Shaw, A., Zinsstag, J., & Meslin, F. (2005). Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *World Health Association*. 360-368.

- Lescureux, N., & Linnell, J. (2014). Warring brothers: The complex interactions between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) in a conservation context. *Biological Conservation*, 232-245.
- Laurenson, M., Sillero-Zubiri, C., Thompson, H., Shiferaw, F., Thirgood, S., & Malcolm, J. (1998). Disease as a threat to endangered species: Ethiopian wolves, domestic dogs and canine pathogens. *Animal Conservation*, 273–280.
- Laurenson, M., Cleaveland, S., Artois, M., & Woodroffe, R. (2004). *Assessing and managing infectious disease threats to canids*. En: Canids: foxes, wolves, jackals and dogs, status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Canid specialist group. 246-255.
- Leonard, J., Wayne, R., Wheeler, J., Valadez, R., Guillen, S., & Vila, C. (2002). Ancient DNA evidence for old world origin of new world dogs. *Science*, 1613-1616.
- Levett, P. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 296-326.
- López, J., Abarca, K., Paredes, P., & Inzunza, E. (2006). Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. *Revista Médica de Chile*, 193-200.
- Lorenzana, L. (2008). Actualización en la terapéutica del moquillo canino. *Virbac*.
- Loureiro, A.P., Martins, G., Thomé, S., & Lilenbaum, W. (2014). Laboratorial diagnosis of animal leptospirosis. *Revista Brasileira de Ciências Veterinarias*. 119-126.

- Lucero, N., Escobar, G., Ayala, S., & López, G. (2002). Sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunoassay for the diagnosis of *Brucella canis* infection in dogs. *Journal of Medical Microbiology*. 656-660.
- Lucero, N., Escobar, G., Ayala S., & Jacob, N. (2005). Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*. 457-461.
- Lucero, N., Jacob, N., Ayala, S., Escobar, G., Tuccillo, P., & Jacques I. (2005). Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*. 505-508.
- Lucherini, M., & Merino, M.J. (2008). Perceptions of human-carnivore conflicts in the High Andes of Argentina. *Mountain Research and Development*, 81-85.
- Maclachlan, N., & Dubovi, E. (2011). Paramyxoviridae. *Fenner's veterinary virology*. San Diego: Academic Press.
- Magal, P., Auger, P., & Ruan, S. (2008). *Structured Population Models in Biology and Epidemiology*. Pringer Science & Business Media. 302.
- Mahy, B., & Reguenmortel, M. (2010). *Desk encyclopdia of animal and bacterial virology*. San Diego. Elsevier.
- Martela, V., Elia, G., & Buonavoglia, C. (2008). Virus del moquillo canino. Virus emergentes y reemergentes. *Clínicas veterinarias pequeños animales*. 4-38.

- Martínez-Barbosa, I., Gutierrez, E., Alpizar, E., & Pimienta, R. (2008). Contaminación parasitaria en heces de perros, recolectadas en calles de la ciudad de San Cristobal de las Casas, Chiapas México. *Vet Méx*, 173-180.
- Martino, P., Montenegro, J., Preziosi, J., Venturini, C., Bacigalupe, D., Stanchi, N., & Bautista, E. (2004). Serological survey of selected pathogens of free-ranging foxes in southern Argentina, 1998– 2001. *Rev Sci Tech OIE*. 801–806.
- Mc Callum, H. & Dobson, A. (1995). Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*, 190-194.
- McCarthy, A., Shaw, M., Goodman, S. (2007). Pathogen evolution and disease emergence in carnivores. *Proceedings of The Royal Society of London B: Biological Sciences*. 3165-3174.
- Medina-Vogel, G. (2010). Ecología de enfermedades infecciosas emergentes y conservación de especies silvestres. *Archivos médicos*. 11-24.
- Megid, J., Teixeira, C., Amorin, R., Cortez, A., Heinemann, M., de Paula Antunes, J., da Costa, L., Fornazari, F., Cipriano, J., Cremasco, A., & Richtzenhain, L. (2010). First identification of canine distemper virus in hoary fox (*Lycalopex vetulus*): pathologic aspects and virus phylogeny. *Journal of Wildlife Diseases*. 303-305.
- Millán, J., Chirife, A., Kalema-Zikusoka, G., Cabezón, O., Muro, J., Marco, I., Cliquet, F., León-Vizcaíno, L., Wasniewski, M., Almería, S., & Mugisha, L. (2013). Serosurvey of dogs for human, livestock, and wildlife pathogens, Uganda. *Emerging Infection Diseases*. 680-682.

- Monteverde, M., & Piudo, L. (2011). Activity patterns of culpeo fox (*Lycalopex culpaeus magellanica*) in a non-hunting área of northwestern Patagonia, Argentina. *Mammal Study*, 119-125.
- Monroe, P., Silberg, S., Morgan, P., & Addes, M. (1975). Seroepidemiological investigation of *Brucella canis* antibodies in different human population groups. *Journal of Clinical Microbiology*. 382-386.
- Moreira, R., & Stutzin, M. (2005). Estudio de mortalidad en zorros en la IV región, Chile. *Boletín Veterinario Oficial. Servicio Agrícola y Ganadero*.
- Moro, P., Ballarta, J., Gilmar, R., Leguia, G., Rojas, M., & Montes, G. (1998). Intestinal parasites of the Grey Fox (*Pseudalopex culpaeus*) in the Central Peruvian Andes. *Journal of Helminthology*, 87-89.
- Murphy, F., Gibbs, E., Horzinek, M., & Studdert, M. (1999). *Veterinary virology*. San Diego. Academic Press.
- Myers, D., & Varela-Díaz, V. (1980) Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of stray dogs in Moreno, Argentina. *Cornell Vet.* 258-65.
- Navarrete, D. (2008). *Prevención y tratamiento del distemper canino*. (Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México.
- Navone, G., Gamboa, M., Kozubsky, L., Costas, M., Cardozo, M., Sisiauskas, M., & Gonzales M. (2005). Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por

tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. *Parasitología Latinoamericana*. 178-181.

Nelson, R., & Couto, C. (2010). *Medicina interna en pequeños animales*. España. Elsevier.

Novaro A. (1997). *Pseudalopex culpaeus*. *Mammalian Species*, 1–8.

Oliveira, T., Amarante, A., Ferrari, T., & Nunes, L. (2002). Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 19-27.

Oliveira, E., Pinheiro, J., Souza, M., Santana, V., Silva, J., Mota, R., & Sá, F. (2012). Serologic survey of brucellosis in captive neotropical wild carnivores in northeast Brazil. *Journal zoo wildlife medicine*, 384-387.

Oñcel, T. (2005). Seroprevalence of *Brucella canis* infection of dogs in two provinces in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 779-783

Organización Panamericana de la Salud. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: clamidiosis, rickettsiosis y virosis. 1-439.

Osofsky, S., Cleaveland, S., Karesh, W., Kock, M., Nyhus, P., Starr, L., & Yang, A. (2005). Conservation and development interventions at the wildlife/livestock interface: Implications for wildlife, livestock and human health. *IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK*.

Paez, A., Saad, C., Nunez, C., & Boshell, J. (2005). Molecular epidemiology of rabies in northern Colombia 1994-2003. Evidence for human and fox rabies associated with dogs. *Epidemiology and Infection*. 529-536.

Parasites - Zoonotic Hookworm. (11 de Octubre de 2012). Obtenido de CDC:

<http://www.cdc.gov/parasites/zoonotichookworm/biology.html>

Pardo, A., Pérez, C., Góngora, A., Gómez L., & Moreno, A. (2009). Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio – Colombia. *Revista MVZ Córdoba.* 1690-1696.

Pozo, W.E., & Trujillo, F. (2004). Lista anotada de la fauna de la Laguna Loreto, Reserva Ecológica Cayambe Coca, Ecuador. *Centro de investigaciones IASA. Boletín Técnico 5, serie Zoológica,* 29-43.

Proença, L., Silva, J., Galera, P., Lion, M., Marinho-Filho, J., Alves, A., Gennari, S., Dubey, J., Arruda, S., Oliveira, G., Pinheiro, J., de Assis, V., França, G., & Rodrigues, F. (2013). Serologic survey of infectious diseases in populations of maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Aguas Emendadas Ecological Station, Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* 152-155.

Reilly, J., Hanson, L., & Ferris, D. (1970). Experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira grippotyphosa* from rodents to wild marsupialia and carnivora. *American Journal of Veterinary Research.* 1443–1448.

Rodríguez-Vivas, R., Cob-Calera, L., & Domínguez-Alpizar, J. (2005). *Técnicas Diagnósticas en Parasitología Veterinaria.* Mérida: Universidad Autónoma de Yucatán.

Romero, R., (2007). *Microbiología y Parasitología humana.* México D.F. Edición Médica Panamericana.

- Romo, M.C. (1995). Food habits of the Andean fox (*Pseudalopex culpaeus*) and notes on the mountain cat (*Felis colocolo*) and puma (*Felis concolor*) in the Rio Abiseo National Park, *Peru. Mammalia*, 335-343.
- Red Ford, K., & Eisenberg, J. (1992). Mammals of the Neotropics. The southern cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay. *The University of Chicago Press, Illinois*, 1-430.
- Roelke-Parker, M., Munson, L., Packer, C., Kock, R., Cleaveland, S., Carpenter, M., Obrien, S., Pospischil, A., Hofmann-Lehmann, R., Lutz, H., Mwamengele, G., Mgasa, M., Machange, G., Summers, B., & Appel, M. (1996). A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*. 441-445.
- Ruíz, J., Giraldo, C., López, L., & Chica, J. (2008). Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros callejeros del Centro de Bienestar Animal “La Perla” Medellín (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 166-172.
- Santos, T., Quagliatto, A., Monteiro, A., Olímpia, D., Tavares, T., Cavalcanti, F., Gemesio, F., & Corassa, R. (2012). Correção de anticorpos contra *Leptospira spp.* em canídeos selvagens de vida livre do cerrado brasileiro. *IX Mostra da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e Apresentação de Trabalhos Científicos da FAMEV UFU*. 51-56.
- Santos, J., (2014). Presencia de anticuerpos contra el virus de distemper canino en perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) de áreas rurales habitadas por el zorro de Sechura (*Lycalopex sechurae*). *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 1-81.

- Sarmiento, L., Tantaleán, M., & Huiza A. (1999). Nemátodos parásitos del hombre y de los animales en el Perú. *Revista Peruana de Parasitología*, 9-65.
- Sinclair, A., Fryxell, J., & Caughley, G. (2006). Wildlife ecology, conservation and management. 2da ed. Oxford: *Blacwell Science publishing*. 179-195.
- Schantz, P., & Lord, R. (1972). Echinococcus in the South American red fox (*Dusicyon culpaeus*) and the European hare (*Lepus euopaeus*) in the Province of Nequén, Argentina. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 479-485.
- Schoeb, T., & Morton, R. (1978). Scrotal and testicular changes in canine brucellosis: a case report. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 598–600.
- Scialfa, E., Brihuega, B., Venzano, A., Morris, W., Bolpe, J., & Schettino, M. (2013). First Isolation of *Leptospira interrogans* from *Lycalopex griseus* (South American Gray Fox) in Argentina Shows New MLVA Genotype. *Journal of Wildlife Diseases*. 168-172.
- Scioscia, N., Beldomenico, P., Petrih, R., Pierangeli, N., & Denegri, G. (2013). Epidemiological studies on *Echinococcus* in Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) and European hare (*Lepus europaeus*) in Buenos Aires province, Argentina. *Parasitology Research*, 3607-3613.
- Sillero-Zubiri, C., King, A., & MacDonald, D. (1996). Rabies and mortality in Ethiopian wolves (*canis simensis*). *Journal of Wildllife Diseases*, 80-86.

- Sillero-Zubiri, C. y Laurenson, M. (2001). Interactions between carnivores and local communities: Conflict or co-existence? En Funk, G., Macdonald D. y Wayne, R. *Carnivore Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Sillero-Zubiri, C. y Macdonald, D. (2004). *Canids: foxes, wolves, jackals and dogs, status survey and conservation action plan*. IUCN/SSC Canid specialist group. 69-72
- Sixtos, C. (2010). Procedimientos y técnicas para la realización de estudios coproparasitológicos. *Virbac*, 24.
- Soler, L., Carenton, J., Salvarori, V., & Coles, R. (2004). Evaluación del estado de conocimiento de aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus*) en Argentina. *Memorias: Manejo de Fauna silvestre en Amazonia y Latinoamérica*, 610-615.
- Stein, M., Suriano, M., & Novaro, J. (1994). Nematodes parásitos de *Dusicyon griseus*, *D. culpaeus* y *Conepatus chinga* (Mamifera: Carnivora) en Neuquén, Argentina: Sistemática y ecología. *Boletín Chileno de Parasitología*, 60-65.
- Sunquist, M. and Sunquist F. (2001). Changing landscapes: consequences for carnivores. En: Gittleman, J., Funk, S., Macdonald, D., Wayne, R. *Carnivore Conservation*. Pp. 399-418. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Suputtamongkol, Y., Pongtavornpinyo, W., Lubell, Y., Suttinont, C., Hoontrakul, S., Phimda, K., Losuwanaluk, K., Suwancharoen, D., Silpasakorn, S., Chierakul, W., & Day, N. (2010). Strategies for Diagnosis and Treatment of *Suspected Leptospirosis: A Cost-Benefit Analysis*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. e610.

- Sykes, J., Hartmann, K., Lunn, K., Moore, G., Stoddard, R., & Goldstein, R. (2011). 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1-13.
- Tantaleán, M., Mendoza, L., & Riofrío, F. (2007). El zorro Andino, *Pseudalopes culpaeus*, un nuevo huésped para *Corynosoma obtuscens* (Acanthocephala) en el Perú. *Revista peruana de biología*, 51-52.
- Tirira, D. (2004). Nombres de los mamíferos del Ecuador. Austin: *Ediciones Murciélago Blanco*.
- Tittarelli, M., Di Ventura, M., De Massis, F., Petrini, A., Giovannini, A., Nannini, D., & Caporale, V. (2004). Kinetics of the antibody response in ewes experimentally infected with *Brucella melitensis* biovar 3. *Veterinaria Italia*. 5-10.
- Valderrama, R. & Delgado, K. (2013). Determinación de la presencia de *Brucella canis* en caninos de dos refugios de la ciudad de Bucaramanga en 2012. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 95-103.
- Vieira, F., Luque, J., Suell, S., Moraes, A., & Muniz, L. (2012). *Dipylidium caninum* (Cyclophyllidea, Dypylidiidae) in a wild carnivore from Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 233-234.
- Wanke, M. (2004) Canine brucellosis. *Animal Reproduction Science*. 195- 207.

Welborn, L., DeVries, J., Ford, R., Franklin, R., Hurley, K., McClure, K., Paul, M., & Schultz, R. (2011). Canine vaccination guidelines. *American Animal Hospital Association*.

Whipworms in Small Animals. (Septiembre del 2014). Obtenido de The merck Veterinary Manual:

http://www.merckmanuals.com/vet/digestive_system/gastrointestinal_parasites_of_small_animals/whipworms_in_small_animals.html

Wilmers, C., Post, E., Peterson, R., & Vucetich, J. (2006). Predator disease outbreak modulated top-down, bottom-up and climatic effects on herbivore population dynamics. *Ecology Letters*. 383–389.

Woodroffe, R., 1999. Managing disease threats to wild mammals. *Animal Conservation* 2, 185–193.

Zajac, A., & Conboy, G. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.