

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN E HISTOPATOLOGÍA TESTICULAR DE CAPRINOS REACTORES POSITIVOS A Brucella melitensis

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

JOSE LUIS APODACA SARABIA
DIRECTOR: ARTURO A. TREJO GONZALEZ.
ASLSOR TÉCNICO: EDMUNDO PÉREZ DURÁN

1 9 8 1



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Págs.
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	8
MATERIALES Y METODOS	9
RESULTADOS Y DISCUSION	15
CONCLUSIONES	20
BIBLIOGRAFIA	21
ANEXOS	24

INTRODUCCION

La brucelosis actualmente está considerada como la enfermedad más importante de los animales domésticos en término de la cantidad de daños causados por concepto de abortos, problemas reproductivos, reemplazo y disminución de la producción láctea, hasta la muerte de las crías^(1,9). Esta enfermedad existe en humanos por contacto con animales⁽¹⁾, siendo la mayor causa de brucelosis humana en México⁽¹⁰⁾, la B. melitensis que representa el 90% de los casos⁽¹⁵⁾.

La descripción exacta de la fiebre de Malta fue hecha por Marston en 1861⁽¹⁾. El organismo fue aislado por primera vez por Bruce^(1,5,18,22). El descubrimiento de que la fuente de la infección era la leche de cabras infectadas por Zammit en 1905^(1,18,22).

La brucelosis es un padecimiento del que existe escasa información en México tanto en su presentación en humanos como en animales⁽¹⁰⁾.

En 1906 Carbajar publicó una nota sobre un caso de fiebre remitente. En 1912 el Dr. Roséndiz en Querétaro relacionó la presencia de fiebre remitente con una importación realizada en 1910 con cabras murcianas. En 1924 Ocaranza y Varela en el D.F. aislaron B. melitensis en un caso de brucelosis huma-

DISTRIBUCION GEOGRAFICA:

La presencia de B. melitensis es mayor en zonas y países donde se cria ganado caprino, especialmente en Europa, -- Africa del norte y E.U.A. (4,22). En muchas partes del mundo -- donde se crían caprinos, salvo quizá en Gran Bretaña y Escandinavia (3).

En México se presentó en una región territorial muy extensa en forma de triángulo, constituida su base por los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas y sus vértices por porciones de los estados de México, Guanajuato, Querétaro, Michoacán y San Luis Potosí (22). En México solamente dos estados no acusan la enfermedad en humanos, Campeche y -- Quintana Roo (11).

LA ENFERMEDAD EN CAPRINOS:

El aborto es la principal manifestación de brucelosis en caprinos y ovinos (1,4). Las hembras infectadas tanto si paren normalmente como si abortan, eliminan gran número de brucelas en las secreciones uterinas (4). En las secreciones vaginales usualmente la brucela persiste alrededor de tres meses -- después del aborto (1).

Las vías de eliminación del germen son las siguientes (22):

- 1.- Las cubiertas fetales, líquido amniótico y feto, - que contiene gran cantidad de gérmenes.
- 2.- Los excrementos de animales recién nacidos incluyendo gran cantidad de gérmenes que siguen alimentando durante varias semanas.
- 3.- Las secreciones vaginales que fluyen tras el aborto, permanecen infectantes durante una o dos semanas.
- 4.- La leche constituye también un importante material virulento si bien como señala Curasson la eliminación de brucelas por esta vía es en general intermitente, aunque puede ser continua e inclusive cesar bruscamente. La duración de esta eliminación - varía según la especie y el individuo. En general, en la oveja cesa al cabo de uno o dos meses, y en la cabra la leche puede continuar hasta 140 días y en la vaca la leche retiene la brucela prácticamente todo el tiempo que dura la infección.
- 5.- La orina es fuente frecuente de eliminación de brucelas en las cabras (informe de la FAO/OMS. También tiene importancia en la oveja y la vaca, durante - los dos a cinco primeros meses de la enfermedad.
- 6.- La eliminación de brucelas a través del esperm, -

contra lo que antaño se creía, solo ocurre en casos raros (sementales fuertemente contaminados y con orquitis).

- 7.- Las haces y las secreciones nasales son en general pobres en brucelosis, sin embargo puede haber eliminación por estas vías.

La principal puerta de entrada es por ingestión^(1,4,18,22) Sigue en importancia la mucosa conjuntival^(1,22), a través de la piel^(1,18,22) o por inhalación⁽¹⁾. Se sospecha del contagio por la monta⁽¹⁸⁾.

Desde la puerta de entrada, que suele ser la vía digestiva las brucelas ingresan al organismo a través del intestino o de la cavidad faríngea, llegan a los pocos días a los ganglios linfáticos vecinos de los que pasan a la sangre y la infección se hace generalizada^(1,18,22).

Los gérmenes son destruidos en la sangre en gran cantidad pero otros van a encontrarse en aquellos órganos en los que por existir una circulación lenta es elevado el nivel carbónico, creandose con ello un medio muy adecuado para el desarrollo de las brucelas. Tales órganos son vainas sinoviales, algunos ganglios linfáticos, tejido mamario y testículo, el epidídimo, las vesículas seminales y la próstata⁽²²⁾.

En caso de gestación probablemente prolifera un enorme

número en el útero causando aborto^(1,22), y una menor extensión en la ubre donde un apacible ataque de mastitis puede -- ocurrir^(1,4).

Usualmente no hay otros signos presentes y más tarde - la enfermedad se vuelve crónica y localizándose en la ubre^(1,4). Algunas cabras infectadas abortan solo una vez, otras repetidamente⁽¹⁾. La mayoría de las cabras desechan la infección -- ellas mismas pero éstas pueden infectarse a los años⁽¹⁾.

NECROPSIA:

No existen lesiones características de esta forma de - brucelosis. El microorganismo causal puede aislarse con frecuencia de todos los tejidos pero con toda posibilidad el bazo es el sitio más frecuente de infección⁽⁴⁾.

El macho cabrío puede padecer orquitis^(1,4,14,18) y -- epididimitis⁽¹⁴⁾.

HISTOPATOLOGIA:

En los testículos en los que hay orquitis generalmente hay grandes áreas de necrosis caseínica, rodeada por densas - zonas de colágeno⁽¹⁴⁾.

FACTORES ECONOMICOS Y DE SALUD PUBLICA:

La brucelosis caprina como ya se mencionó causa grandes pérdidas a la industria pecuaria⁽⁹⁾. El aborto frecuente, causa pérdidas de cabritos que se necesitan para la crianza - como reemplazo de adultos⁽¹⁾. Acompañado al aborto hay generalmente mucha reducción en la producción de leche⁽²⁾.

Calcedo (1968) y Campeire y García (1968) resumen las pérdidas que causa la enfermedad y las clasifican en las siguientes⁽⁹⁾:

- a).- Las pérdidas directas aparentes contemplan principalmente la de crías ya sea por abortos y por mortinatos, por problemas reproductivos (infertilidad), por reemplazo, por disminución de la producción como leche, carne, etc.; gastos de asistencia médica veterinaria y mortalidad.
- b).- Las pérdidas directas no aparentes contemplan la depreciación de los animales enfermos, retrasos de crecimiento, pérdida de peso, recuperación del peso perdido del mercado interno y pérdida de líneas genéticas.
- c).- Las pérdidas indirectas consecutivas; repercuten sobre la salud humana en cuanto al ausentismo, --

gastos de enfermedad, disminución de la capacidad, indemnizaciones y mortalidad, repercute además a la industria y al mercado nacional e internacional.

En México, la campaña nacional para el control de la brucelosis en 1975, realizó un estudio de pérdidas económicas por esta enfermedad y concluyó que en los caprinos ascendieron a \$21,155,286.00 M.N. (9).

La importancia de la brucelosis desde el punto de vista de la salud pública comprende no solo su transmisión directa o indirecta de los animales infectados al hombre, con la consiguiente enfermedad, incapacidad física y pérdida de mano de obra, sino también la grave reducción de alimentos muy necesarios en particular los que contienen proteínas de origen animal, elemento esencial para la preservación de la salud y el bienestar del ser humano (23).

La presencia de una infección de B. melitensis es un medio para que el granjero y su familia estén en contacto con la enfermedad (1,23).

La prevención en el hombre depende del control y eliminación de esta en los animales (23).

El área de estudio (Celaya Guanajuato) es una zona endémica de esta zoonosis en México y se aparean machos y hembras sanos y enfermos sin control.

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo es determinar si existen cambios en la calidad del semen entre machos reactivos positivos a las pruebas serológicas de brucelosis y machos reactivos negativos a dichas pruebas.

Igualmente demostrar la transmisión de las bacterias a través del semen y determinar las lesiones histopatológicas de los testículos de los animales infectados.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en el estado de Guana--juato, en una explotación caprina.

1.- Animales.- Se utilizaron 13 machos caprinos de los cuales 5 eran de raza Toggenburg, 5 Alpinos y 3 Saanen. Todos mayores de 2 años de edad.

2.- Examen clínico.- Se realizó el examen clínico de cada uno de los sementales, mediante observación y palpación de testículos y epidídimo, con el objeto de detectar procesos patológicos aparentes.

3.- Examen serológico.- A cada uno de los sementales se les colectó aproximadamente 10 mililitros de sangre, con el objeto de obtener suero, el cual se utilizó en los estudios serológicos que se describen en el anexo 1.

4.- Colección y evaluación del semen.- El semen es colectó una vez por semana a cada semental, obteniéndose 3 mosj tras por animal. La colección se realizó con la vagina artificial de acuerdo con Umland (1976)⁽²⁴⁾ (anexo 2) y se realizó para valorar las siguientes características:

A)-Volumen; el volumen se midió directamente sobre el tubo colector graduado.

B)-pH; el pH se midió con la escala 6 a 8 utilizando - papel reactivo con escala colorimétrica.

C)-Motilidad individual; la motilidad individual se mi dió observando el semen diluido en solución salina con el mi croscopio de platina caliente con aumento de 15 X 40 de acue rdo a la metodología descrita por Zemjanis (27).

D)-Concentración; la concentración espermática por mi lilitro se realizó en el hemocitómetro de Spenser con di lución 0.05 en citrato-formol de acuerdo a la metodología de Ca meron (1977) (8).

E)-Anormalidades primarias y secundarias; para id enti- ficar a los espermatozoides con alteraciones de tipo pr imario y secundario se practicaron frotis coloreados y fijados con - Wright de acuerdo a Herrick (1965) (13).

5.- Examen bacteriológico.- Se tomó una muestra de se men por cada semental para realizar siembras bacteriológicas- con el fin de aislar y tipificar la B. melitensis. Los medios de cultivo que se utilizaron fueron de agar base adicionado - con 10% de sangre desfibrinada de bovino, en brucela agar con 5% de suero de bovino. Estos dos medios se sembraron por dupli cado con el objeto de incubar uno de ellos en at mósfera de ai re normal, en tanto que el otro en estufa de anaerobiosis con at mósfera normal a la que se le agregó 10% de CO₂. La id enti-

ficación de las bacterias aisladas se hizo de acuerdo a los procedimientos de rutina^(3,6).

En el cuadro 1 se presentan algunas características - de la B. melitensis en comparación con otras especies del género Brucella.

6.- Examen histopatológico.- Para realizar el examen histopatológico se orquiectomizarón varios caprinos con reacciones serológicas positivas, se fijaron los órganos en solución de Bouin (anexo 3). Se procesaron y colorearon de acuerdo a la rutina de la sección de histopatología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (anexo 4).

7.- Los datos fueron analizados estadísticamente por medio de la prueba de "t" de Student para comparación entre dos medias o entre dos proporciones.

CUADRO 1
Características de B. melitensis en comparación con otras especies del género^{a)}

Especies	No. de Biotipo	Requerimien- tos de CO ₂	Producción de H ₂ S	Crecimiento en presencia de Thionina				Susceptibi- lidad al fago Tb		Aglutinacion por sueros monoespecifico		
				10	20	50	10	20	DRP ^{c)} 10 ⁴ x DRP	A	M	R
<i>B. melitensis</i>	3			+	+	-	+	-	-	+	+	-
										(-)	(-)	
<i>B. ovis</i>	1		-	+	+	-	+	+	-	-	-	+
<i>B. abortus</i>	9	+ (-) ^{b)}	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
			(-)	(-)	(-)					(-)	(-)	
<i>B. suis</i>	5	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(+)	(+)
<i>B. canis</i>	1		-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-

A.- Suero monovalente antiabortus. M.- Suero monovalente antimelitensis.

R.- Suero monovalente antibrucelas.

a) Micrografos de colorante, por mililitro de medio.

b) El paréntesis indica la existencia de algunos biotipos negativos y otros positivos, según el signo que contenga.

c) DRP, significa dosis de rutina para prueba.

d) *Journal of Bacteriology* (Microbiological Association of Great Britain), 1957, 70, 1-10.

RESULTADOS Y DISCUSION

1.- Examen clínico.- En el examen clínico realizado no se encontró a la palpación dolor, ni alteraciones en testículo.

2.- Examen serológico.- En el examen serológico se detectaron 8 sementales como reactores positivos a las pruebas serológicas de aglutinación lenta en tubo y aglutinación en placa, el resto de los animales usados como testigos eran serológicamente negativos a estas pruebas. Los animales que se encontraron como positivos a estas pruebas, tenían títulos superiores a 100.

3.- Evaluación de semen.- No se encontraron diferencias significativas estadísticamente ($P < 0.01$) entre las características seminales de los animales serológicamente positivos y los negativos (Cuadro 4).

A)-Volumen; en los machos serológicamente negativos se encontró un rango de 0.3 a 2.2 ml. (cuadro 2) siendo un total de 15 las muestras colectadas y en los machos serológicamente positivos se encontró un rango que fue de 0.4 a 1.6 ml. (cuadro 3), siendo un total de 24 muestras las tomadas. Como se podrá ver el que menos líquido seminal dio fue de los machos serológicamente negativos, pero el que más dio también fue de

los machos negativos. Las medias que se obtubieron fueron de 0.89 y 0.94 para los negativos y positivos respectivamente -- (cuadro 4). Estos datos no tienen ningun significado estadisticamente ($P < 0.01$).

B)-pH; en lo que respecta al Ph, se encontró un rango de 6.4 a 7.0 para ambos grupos, por lo que se concluye que no existen diferencias estadísticas significativas ($P < 0.01$).

C)-Motilidad individual; como se podra observar en los cuadros 2 y 3 la motilidad individual tubo una gran variación tanto en los machos serológicamente positivos como en los negativos, y los rangos variaron de 12% a 85% para los negativos y de 16% a 77% para los positivos, siendo los machos negativos los que obtuvieron una menor motilidad pero a la vez, - obtuvieron la mayor, sin embargo estas variaciones pudieron haberse debido a que los machos serológicamente negativos tenían mayor actividad sexual durante el experimento. Las medias para cada grupo fueron de 52.5% y 58.4% para positivos y negativos respectivamente, siendo un total de 23 muestras para -- los positivos y 14 para los negativos, por lo que se puede -- concluir que estadísticamente no existen diferencias significativas ($P < 0.01$).

D)-Concentración; en los machos serológicamente negativos los rangos en que se encontró la concentración fue de - -

146 X 10⁷ a 489 X 10⁷, y para los machos serológicamente positivos de 122 X 10⁷ a 595 X 10⁷ (cuadro 2 y 3), estando la menor concentración para el grupo de los positivos, pero también la mayor concentración la obtuvo este grupo, pero estadísticamente no muestran diferencias ya que tienen una media de 342 X 10⁷ y de 354 X 10⁷ para positivos y negativos respectivamente (cuadro 4).

E)-Anormalidades primarias y secundarias; las anomalías primarias no mostraron diferencias y fueron tan pequeñas en porcentaje (<1.5) que se analizaron junto con las de tipo secundario. Estas no mostraron gran diferencia entre los machos serológicamente negativos y los positivos puesto que la media para cada uno de los grupos fue de 6.11 y 5.8 respectivamente por lo que no representaron alguna diferencia significativa (P<0.01).

4.- Resultados de bacteriología.- Después de incubar durante 48 horas los cultivos del líquido espermático, se observó, el crecimiento de colonias lisas, muy pequeñas, que crecieron solamente en los medios enriquecidos con suero o sangre, que se incubaron sin CO₂. Las cajas resultantes resultaron sin crecimiento bacteriano. Las bacterias aisladas resultaron ser cocabacilos pequeños, gram-negativos, sin movimientos; las pruebas de la catalasa fueron positivas, mientras

que la oxidasa resulto ser negativa. Estos microorganismos -- crecieron en medios que contenian ticonina o fucsina básica. - Al cultivarse en medios de OF, no se produjeron cambios apa-- rentes.

Las pruebas de hidrolisis de urea, reduccion de nitra-- tos y utilizacion de citrato, tambien fueron negativas. No hu bo produccion de H₂S.

5.- Resultados de histologia.- No se encontraron alte-- raciones histologicas en ninguno de los testiculos analizados.

CUADRO 2

Resultados de la evaluación de los sementales negativos a las pruebas serológicas de Brucela.

No. de Sementales	Eyaculación	Volumen (ml)	Color	pH	Mortalidad		Concentración $\times 10^7$
					Masa	Individual %	
1	1	1.1	Cremoso	6.8	4	85	230
	2	2.1	Cremoso	6.8	1	57	498
	3	1.2	Cremoso	6.8	2	41	489
2	1	0.5	Cremoso	7.0	1	41	146
	2	0.3	Cremoso	7.0	1	48	316
	3	0.4	Cremoso	6.8	2	60	443
3	1	0.4	Cremoso	6.8	3	80	-
	2	0.9	Cremoso	6.4	2	53	429
	3	0.8	Cremoso	6.4	1	31	435
4	1	2.2	Cremoso	6.8	0	12	429
	2	1.9	Cremoso	6.8	1	35	420
	3	1.3	Cremoso	6.8	1	55	486
5	1	0.5	Cremoso	6.8	2	52	259
	2	0.4	Cremoso	6.8	1	42	377
	3	0.3	Lechoso	6.8	1	31	217

CUADRO 3

Resultados de la evaluación de los sementales positivos a las pruebas serológicas de Brucelas.

No. de Sementación	Eyaculación	Volumen (ml)	Color	pH	Motilidad		Concentración x10 ⁷
					Masa	% Individual	
1	1	0.8	Lechoso	6.8	2	16	464
	2	0.9	Blanco	6.4	0	49	595
	3	1.3	Cremoso	6.8	3	63	492
2	1	0.6	Cremoso	6.8	3	41	422
	2	1.1	Cremoso	6.8	0	28	401
	3	1.1	Cremoso	6.8	4	77	440
3	1	0.9	Cremoso	6.4	4	60	226
	2	0.6	Cremoso	6.4	1	46	426
	3	0.6	Cremoso	6.4	1	50	454
4	1	0.5	Cremoso	6.4	0	-	-
	2	1.3	Cremoso	6.8	3	52	381
	3	1.4	Cremoso	6.8	4	48	193
5	1	1.3	Cremoso	7.0	1	18	122
	2	1.2	Cremoso	6.8	2	27	319
	3	1.6	Cremoso	6.8	4	62	422
6	1	1.3	Cremoso	6.4	2	58	472
	2	1.0	Cremoso	6.8	3	68	505
	3	1.1	Cremoso	7.0	2	52	340
7	1	0.4	Cremoso	7.0	1	17	263
	2	0.9	Cremoso	6.8	0	19	251
	3	0.9	Cremoso	7.0	2	30	221
8	1	0.6	Cremoso	6.8	3	49	296
	2	0.8	Cremoso	7.0	4	68	166
	3	0.4	Cremoso	7.0	2	30	221

CUADRO 4

Características del semen

Comparación entre machos reactores positivos a las pruebas serológicas de Brucela y machos reactores negativos a dichas pruebas.

Tratamiento		Volumen (ml)	pH	Motilidad Individual %	Concentración $\times 10^6$	Anormalidades %
Reactores Positivos	\bar{X}	0.94	6.75	52.5	3420	5.8
	S \pm	0.33	0.21	16.8	140.37	2.9
	n	24	24	23	23	22
Reactores Negativos	\bar{X}	0.89	6.77	58.4	3540	6.11
	S \pm	0.57	0.16	17.9	138.62	2.1
	n	15	15	15	14	13

\bar{X} .- media - no existieron diferencias significativas ($P < 0.01$)

S.- Desviación estandar

n.- número de muestras

CONCLUSIONES

- 1) Los machos caprinos que reaccionaron en forma positiva a las pruebas serológicas de brucelosis, - no tenían afectada su calidad seminal ni sus estructuras genitales.
- 2) La Brucella melitensis se puede aislar a partir - del eyaculado, por lo que el macho puede actuar - en forma significativa en la transmisión, al copular con varias hembras durante la temporada de em padre.
- 3) Faltan muchos estudios sobre los efectos de esta enfermedad sobre machos caprinos infectados en for ma experimentales.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alton G.G. (1973). Brucellosis in Goats and Sheep. *Revista Mundial de Zootecnia*. 5: 16-20
- 2.- Alton G.G. (1970). Brucella melitensis infection in -- female kids born a heavily infected enviroment. *British Veterinary Journal*. 126 (2): 61-67.
- 3.- Alton G.G. Jones L.M. and Piets D.E. (1975). *Laboratory Techniques in Brucellosis*. 2nd Ed WHO, Geneva.
- 4.- Blood D.C. and Henderson J.A. (1974). *Medicina Veterinaria*. 4 ta Ed. Interamericana: 387-404.
- 5.- Bruner D.W. y Gillespie J.H. (1970). *Hagan Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos*. 5ta Ed. Prensa Médica Mexicana: 281-283.
- 6.- Buchanan R.E. and Gibbons N.E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8ta. Ed. Williams and -- Wilkins, Baltimore Maryland: 278-282.
- 7.- Cameron R.D.A. (1976). Characteristics of semen changes during Brucella ovis infection in rams. *The Veterinary Record*. 99: 231-233.
- 8.- Cameron R.D.A. (1975). Semen collection and evaluation in the ram. *Australian Veterinary Journal*. 53: 380-383.
- 9.- Ciprian G.A. (1978). *Repercusión Economica de las Brucelosis en México*. *Memorias del Foro Nacional Sobre -- Brucelosis*, INIP KNEP-UNAM, México Dic. 78: 76-83.

- 10.- Del Rio V. Jaime A. (1978). Campaña contra la Brucelosis en México: Antecedentes y Estrategias. Memorias -- del Foro Nacional Sobre Brucelosis, INIP, ENEP-UNAM, - México Dic. 78: 84-105
- 11.- Escárzaga E. (1978). Brucelosis: Algunos aspectos de - la infección en humanos. Memorias del Foro Nacional -- Sobre Brucelosis, INIP, ENEP-UNAM, México Dic. 78: 47-59.
- 12.- Guss S.B. (1977). Management and Diseases of Dairy -- Goats Journal. Publishing Co. USA: 102.
- 13.- Herrick J.B., Self H.L. (1965). Evaluación de la ferti - lidad toro y del verraco. Ed. Acribia México.
- 14.- Jennings A.R. (1970). Patología Animal. Ira. Ed. Prensa Médica Mexicana: 186-190.
- 15.- Lara Cardenas J.: Vigilancia Epidemiológica de las - - Zoonosis en la Frontera Norte de México. Salud Pública de México, Epoca V, Vol. XI No. 5.
- 16.- Laws L.M.V., Simmons G.G. and Ludford G.G. (1972). Ex - perimental Brucella ovis Infection in Rams. Australian Veterinary Journal 48: 313-317.
- 17.- León A.P., Guerrero J. (1969). Inmunidad Natural Inna - ta para Brucella melitensis. II factores genéticos de - la inmunidad hereditaria a la Brucella melitensis en - las cabras. Rev. Invas. Salud Pública (Méx.) 29 (2): - 107-126.
- 18.- Manninger R. y Mocsy J. (1973). Patología y Terapeuti - cas Especiales de los Animales Domésticos. Ira. Ed. -- Labor: 837-839.

- 19.- Meyer M.E. (1979). Brucellosis (Nonzoonotic-infections); CRC Handbook Series in Zoonosis J.H. Steele, ED., 1st. Edition, CRC Press; 217-223.
- 20.- Pérez E., Flores C.R., De la Higuera J.A. y Trigo T.F. J. (1979). Diagnóstico y Descripción de un Brote de -- Epididimitis Ovína en México, Vol. X: 4: 221-226
- 21.- Quittet E. (1978). La cabra. Ira. Ed. Mundiprensa España: 259.
- 22.- Rodríguez H.G.A. (1978). Epizootiología de la Brucelosis. Memorias del Foro Nacional Sobre Brucelosis. INHP y BNEP-UNAM México Dic. 78: 10-39.
- 23.- Torre L.E. y Gojón de la Garza F. (1970). Incidencia - de la Brucelosis Caprina en Tamaulipas. Salud Pública de México. México. Época V. 12 (3): 333-338.
- 24.- Uvland J. (1976). Trials of Artificial Vaginas for Bull The Veterinary Record. 99:233.
- 25.- Valencia J., Barrón D.C. y Fernández-Baca S. (1979). - Variaciones Estacionales del Semen de Carnero en México. Veterinaria México. 10: 151-156.
- 26.- Whiting D.R., Pietz D.E., Stiles C.F. (1970). Epizootiology of *Brucella melitensis* epizootic in Texas. - - JAVMA. 156: 1263.
- 27.- Zemjanis R. (1966). Reproducción Animal Diagnóstico y Técnicas Terapéuticas. Ed. Limusa México. Ira. Ed. 147-184.

ANEXO 1PRUEBAS SEROLOGICAS

A).- Aglutinación en placa: El antígeno usado para esta prueba es el de B. abortus. En una placa de vidrio se colocan volúmenes iguales (0.03 ml.) de suero y una cantidad de antígeno similar, estas se mezclan y se mantiene la placa en agitación, mediante movimientos de rotación durante tres minutos a temperatura ambiente. Después se hace la lectura con la ayuda de una luz indirecta, con un fondo negro. La interpretación de los resultados se interpretan como positivos o negativos, considerando como positivos aquellos sueros que al unirse al antígeno causan la aglutinación del mismo, con la formación de grumos fácilmente distinguibles a simple vista; mientras que los sueros que forman una suspensión homogénea al combinarse con el antígeno después de la incubación se registran como negativos.

B).- Prueba lenta en tubo: Después de que se obtuvo la muestra de sangre, se deja coagular y se le separa del suero. El suero se mezcla en pequeños tubos de ensayo con suspensión de una cepa especialmente seleccionada de Brucella. En tubos en serie se colocan diluciones crecientes de suero, empezando por una dilución al 1:50 y duplicándola en los otros tubos, o

sea 1:50, 1:100, 1:200. La aglutinación completa en diluciones al 1:100 o más altas pueden ser consideradas como positivas, y la ausencia de aglutinación a la dilución de 1:50 como negativa. Las reacciones en las diluciones de 1:50 pero no mayores, son consideradas como sospechosas.

ANEXO 2

VAGUETA ARROZIFICIAL

Tubo rígido de 30 centímetros de largo por 5.7 centímetros de diámetro.

Un cono colector de latex.

Seis ligas anchas de hule latex.

Fundas de polietileno liso de 45 centímetros de largo por 10 centímetros de ancho.

Un tubo colector (de centrifuga graduado).

ANEXO 3SOLUCION DE ROUTE

Solución saturada de ácido pícrico 75 ml.

Formol 25 ml.

Se le agregan 5 ml. de ácido acético cuando se va a --
poner la muestra. La muestra que se va a utilizar debe intro-
ducirse en cortes delgados y se deja en esta solución de 8 a-
24 horas en seguida se saca y se lava con agua corriente du-
rante 24 horas y por último se pone el alcohol al 70%.

ANEXO 4PROCESAMIENTO Y COLORACION**Procesamiento de deshidratación:**

Alcohol de 70% durante 1 hora
Alcohol de 80% durante 2 horas
Alcohol de 90% durante 2 horas
Alcohol de 96% durante 1 hora
Alcohol de 96% durante 2 hora
Alcohol absoluto durante 1 horas
Alcohol absoluto durante 1 hora
Benceno durante 2 horas
Benceno durante 2 horas
Parafina durante 2 horas
Parafina durante 2 horas

Inclusión de la pieza en parafina:

- 1.- Se efectuan cortes histológicos de 4 a 6 micras de espesor, ésto se hace en el microtomo para parafina.
- 2.- Colocar en baño de flotación de tejido a temperatura de 40 a 50°C lo suficiente para que el tejido se extienda.
- 3.- Colocarlo en el porta-objetos.
- 4.- Colocarlo en la platina de calentamiento durante 10- minutos como mínimo a una temperatura de 40 a 50°C.

TINCIÓN**(HEMATOXILINA Y EOSINA)****Desparafinar:**

Xilol durante 5 minutos
Xilol durante 5 minutos
Alcohol absoluto durante 5 minutos
Alcohol de 96% durante 5 minutos
Alcohol de 80% durante 5 minutos
Agua durante 5 minutos

Colorante:

Hematoxilina (de Harris) durante 5 a 10 minutos
Lavado con agua corriente
Alcohol ácido de 5 a 15 segundos
Lavado con agua corriente
Lavado con agua amoniacal
Lavado con agua corriente
Eosina durante 3 a 5 minutos
Alcohol al 96% durante 5 minutos
Alcohol al 96% durante 5 minutos
Alcohol absoluto durante 5 minutos
Alcohol absoluto durante 5 minutos
Xilol durante 5 minutos

Xilol durante 5 minutos

El montaje se efectúa con una gota de resina o balsemo
de Canadá.