

51
2ij



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"**

**DIAGNOSTICO, PREVALENCIA Y DESCRIPCION DE
LA EPIDIDIMITIS OVINA (*Brucella Ovis*) EN ALGUNAS
EXPLOTACIONES OVINAS DEL ESTADO
DE MEXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A N :

**SILVIA HERNANDEZ GODOY
ATZAYACATL REYES GARCIA**

**DIRECTOR DE TESIS: M. V. Z. CITLALI HERNANDEZ VALLE
COASESOR: M. V. Z. GUILLERMO OVIEDO FERNANDEZ**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. MEX.

1987



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 está 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

INTRODUCCION	1
Definición	1
Etiología	1
Epididimitis causada por <u>Brucella ovis</u>	3
Antecedentes	3
Repercusión Económica	4
Importancia en Salud Pública	5
Características de la Bacteria	6
Epizootiología	8
Patogenia	10
Cuadro Clínico y Lesiones	12
Diagnóstico	14
Control y Profilaxis	24
OBJETIVOS	29
MATERIAL Y METODOS	30
RESULTADOS	36
DISCUSION	44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
ANEXOS	55
BIBLIOGRAFIA	60

I N T R O D U C I O N .

La transición que actualmente sufre la industria ovina en México, ha propiciado el desarrollo de sistemas intensivos de producción, así como la necesidad de importar piés de cría de países con una industria ovina desarrollada como lo son Nueva Zelanda, Australia y Estados Unidos de Norteamérica, lo cual facilita la introducción y distribución de enfermedades que no se habían diagnosticado en nuestro país, o bien la exacerbación de enfermedades ya presentes (41), como sucede con la Epididimitis Ovina causada por Brucella ovis, ya que en México está enfermedad ha sido confirmada únicamente en animales de importación (41).

DEFINICION.

La Epididimitis Ovina es una enfermedad infecciosa, contagiosa y progresiva (9, 31), de curso agudo o crónico (39, 53), caracterizada por una inflamación del epidídimo, que puede dar como resultado degeneración testicular e infertilidad (6, 8, 9, 46).

ETIOLOGIA.

Numerosos agentes etiológicos han sido identificados como causantes de la Epididimitis Ovina, entre ellos se encuentran:

Brucella ovis (3, 7, 18, 19, 25, 29, 45, 53); Actinobacillus seminis (2, 9, 18, 19, 23, 25, 29, 45) (actualmente Actinobacillus ovis) (6); Actinobacillus actinomyces tem-comitans (6, 7, 12, 18, 19); Corynebacterium spp (6);

Corynebacterium ovis (2, 12, 18, 19, 29); Corynebacterium pyogenes (18, 19); Pseudomona maltophilia (12, 18); Histophilus ovis (9, 12, 19); Pasteurella spp (9, 12, 18); --- Pseudomona pseudomalei (12); Pasteurella multocida (19); - Pseudomona acuruginosa (12); Pasteurella pseudotuberculosis (19); Staphylococcus spp (6, 12, 18, 19); Escherichia coli (32, 45); Alcaligenes fecalis (12); Brucella abortus (12); Bacillus spp (6); Haemophilus spp (7, 12, 19); Actinobacter wolffi (7, 12, 19); Moraxella spp (12, 19); -- Streptococcus spp (6, 12, 19); Bacteroides spp (12); Salmonella arizonae (12).

Si todos estos microorganismos son capaces de producir epididimitis ovina, son dos los microorganismos que más frecuentemente se han asociado con esta enfermedad: - Brucella ovis y Actinobacillus seminis (2, 9, 18, 19, 23, 25, 29, 45).

Los australianos Baynes y Simmons (citados por 23), - son los primeros en señalar la relación de Actinobacillus seminis con procesos inflamatorios en epidídimo de ovino, ellos lograron aislar la bacteria de tres muestras de carneros con cuadro clínico. En 1964, también se demostró la presencia del microorganismo en los Estados Unidos de Norteamérica (Texas) (23). En nuestro país hasta la fecha no se contaba con evidencias de la presencia de Actinobacillus seminis en carneros con epididimitis (23).

Brucella ovis es reconocido por diversos autores como el agente etiológico más importante de epididimitis -- ovina contagiosa en muchos países (1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, - 11, 18, 19, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 31, 37, 39, 43, 45, - 46, 53, 54).

EPIDIDIMITIS CAUSADA POR BRUCELLA OVIS.

La Epididimitis por Brucella ovis es una enfermedad venérea (29), infecciosa, contagiosa y progresiva de los carneros (9), de curso agudo o crónico (41, 49) de manifestación clínica o subclínica crónica (29), caracteriza da por agrandamiento e induración del epidídimo y atrofia del tejido testicular (29), baja calidad del semen - (5), presencia de granulomas espermáticos y fibrosis progresiva del epidídimo (8, 29, 49), pudiendo ser un proceso unilateral o bilateral, llegando a provocar esterilidad en los machos bilateralmente afectados (9).

ANTECEDENTES.

Este padecimiento fue originalmente descrito por -- Gun (19, 42); posteriormente Simmons y Hall (citados por 23) sugirieron que el agente causal era una bacteria del género Brucella. Buddle (citado por 23), propuso el nombre de Brucella ovis. Y hasta 1965 el Subcomité de Taxonomía de las Brucellas denominó al agente Brucella ovis en forma oficial. En México se había intentado demostrar la presencia de la infección de los rebaños, lo cual resultó infructuoso; Suárez y Cols (citados por 23) encontraron anticuerpos que reaccionaron "in vitro" con antígenos de Brucella ovis, en sueros de borregos de raza Tabasco, sin embargo, no se logró aislar la bacteria, ni se observaron animales con signos clínicos. En 1979-Pérez y Cols lograron por vez primera cultivar una cepa de Brucella ovis a partir de muestras de epidídimo y testículos de un ovino de la raza Suffolk que presentaba -- las alteraciones macroscópicas y microscópicas clásicas de la enfermedad. Este borrego formaba parte de un lote de pié de cría procedente de los Estados Unidos (23).

REPERCUSION ECONOMICA.

La Epididimitis Ovina causada por Brucella ovis ---- usualmente reduce la fertilidad de los carneros. Este -- efecto, sin embargo, no es realmente apreciado por la mayoría de los productores sin percatarse de que es económicamente importante. Por ser muchas las anomalías que afectan al tracto reproductivo, es difícil demostrar en el -- campo los efectos de la Epididimitis de los carneros en la producción y los beneficios que se obtienen al reducir su prevalencia (5).

En resumen las pérdidas que causa esta Brucella son las siguientes:

Pérdidas directas aparentes.- Contemplan principalmente la pérdida de sementales por problemas reproductivos (infertilidad y esterilidad) (1, 6, 9, 21, 28, 34, -- 39, 46) y por lo tanto, baja de la productividad del rebaño que se ve reflejada por:

- 1.- Bajo porcentaje de corderos en el rebaño (33);
- 2.- Corderos nacidos débiles (7, 31, 34, 46);
- 3.- Alargamiento de la época de empadre (46);
- 4.- Así como, vida corta del semental (1);
- 5.- Ocasionalmente la pérdida de crías por abortos - (7, 34, 39) (bajo porcentaje por esta Brucella);
y
- 6.- Gastos de asistencia Médica Veterinaria (48).

Pérdidas directas no aparentes.- Contemplan la depreciación de los animales enfermos, pérdida de mercado - interno y pérdida de líneas genéticas (1, 48).

Pérdidas indirectas o consecutivas.- Repercuten sobre la salud humana, gastos de enfermedad, ausentismo, -- disminución de la capacidad de trabajo, indemnizaciones y mortalidad, además en la industria y en el mercado nacional e internacional (1, 48), gastos en programas de -- control y erradicación (gastos de Médicos Profesionales y de Pruebas de Laboratorio) (23).

Su amplia distribución geográfica y alta incidencia hacen que esta enfermedad cobre gran significancia sobre todo en países con una Industria Ovina en vías de desarrollo (41).

IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA

Las etiologías más frecuentes de Brucelosis en humanos, son las variedades melitensis, abortus, suis y canis (48). Alton y Cols. consideran que Brucella ovis no representa riesgos para la salud en humanos (3, 48), al igual que Van Drimmelen (47). En estudios más recientes mencionan que esta especie de Brucella sí puede ser transmitida al humano, principalmente a los que manejan rebaños (30), además se tiene referencia que en poblaciones de la Unión Soviética, se han encontrado reactores positivos en un -- 8.3% a la Prueba de Fijación de Complemento (23), sin embargo, no existe ningún reporte en el mundo de algún caso clínico causado por Brucella ovis.

CARACTERISTICAS DE LA BACTERIA

Las Brucellas se describieron desde 1887, cuando Bruce aisló e identificó por primera vez la Brucella melitensis. Durante muchos años el género Brucella estuvo compuesto por tres especies: Brucella abortus, Brucella suis y Brucella melitensis, posteriormente Brucella canis y en la actualidad se han agregado dos especies más en forma definitiva Brucella neotomae y Brucella ovis. Las primeras tres y la neotomae se aíslan en forma lisa y rugosa, en -- contraste con ovis y canis que solo se conocen en forma rugosa (3, 48).

La Brucella ovis es un cocobacilo gram negativo, inmóvil, que no forma esporas (3, 48), que forma siempre colonias rugosas; las cuales son menos patógenas que las lisas (48).

Para su crecimiento requiere la presencia de suero o sangre en el medio; además es necesario incubarlo en una atmósfera enriquecida con 10% de CO₂ (23, 42, 48), a 37°C. con un ph de 6.8 (48). Las propiedades bioquímicas de esta bacteria son similares a los otros miembros del género Brucella. Se puede diferenciar de las otras especies mediante pruebas de producción de ácido sulfhídrico, hidrólisis de urea, crecimiento en medio conteniendo colorantes y con el empleo de pruebas de agrutinación con suero monovalente Anti-S y Anti-R (3).

Hasta la fecha sólo se ha logrado demostrar en ovinos.

Las hembras son más resistentes que los machos, los que -- por lo general son altamente susceptibles (23, 48).

Hoyer y Mc Cullough demostraron que la cantidad de -- guanina-citocina (G+C) del ácido desoxirribonucleico (DNA) de las Brucellas, varía entre 56-58 por ciento. Estas investigaciones demostraron que la homología de los polinucleótidos de las diferentes especies de Brucella eran iguales y recíprocos, con excepción de Brucella ovis cuya reciprocidad es menor. Los autores sugirieron que Brucella ovis ha sufrido alteraciones en su DNA (48).

Propiedades Antigénicas. Se ha demostrado la presencia de Antígenos Primordiales en la superficie de las Brucellas lisas las cuales fueron identificadas como A y M. - Estos son lipopolisacáridos con cantidades variables de polipéptidos que poseen características endotóxicas similares a las endotoxinas de las enterobacterias. El fragmento lípido llamado "Lípido A" es responsable de la toxicidad mientras que el componente polisacárido posee la mayor actividad antigénica siendo responsable de la especificidad serológica (48).

En estudios iniciales sobre la relación antigénica entre especies rugosas y lisas de brucellas, se encontró que las cepas rugosas no poseen la endotoxina de tipo lipopolisacárido asociada con la actividad aglutinogénica de las colonias lisas (48). Se demostró además que las colonias rugosas de brucellas poseen características antigénicas similares entre sí, pero distintas a las cepas lisas (3, --- 48).

EPIZOOTIOLOGIA

La epididimitis causada por Brucella ovis ocurre en todas las razas ovinas (8, 14, 29, 31), pero en las razas Merino y Suffolk se presenta con mayor frecuencia (8, 29), aunque hay reportes que indican que las razas británicas tienen una incidencia mayor (36), y en Sudáfrica la incidencia de epididimitis por esta brucella en los carneros de la raza Dorper generalmente es más alta que en los Merinos, esto probablemente se debe a que la actividad sexual de dicha raza empieza antes (19).

Los corderos de cuatro meses son susceptibles a la infección, pero esta susceptibilidad aumenta después de la pubertad a los 6 meses (14) y los carneros sexualmente maduros son los más comúnmente afectados, la incidencia de la enfermedad se incrementa directamente con la edad por: 1) ser una enfermedad de curso crónico; 2) por presentar efectos acumulativos y 3) por tener exposiciones repetidas (7, 8, 12, 14, 19, 29, 36). La epididimitis puede ocurrir en carneros de 6 a 12 meses de edad que no han tenido actividad sexual, sin embargo, Brucella ovis generalmente no es el agente causal (6, 7, 12, 45, 51), los agentes infecciosos más frecuentemente aislados en éstos carneros son: Actinobacillus actynomycetams-comitans y Actinobacillus seminis (actualmente llamado Actinobacillus ovis) (6).

Brucella ovis ha sido diagnosticada en países con una gran separación geográfica, como son: Australia, Nueva Zelanda, Hungría, Yugoslavia, URSS, Sudáfrica, Uruguay, Brasil, Estados Unidos (29, 31), y México (41).

El microorganismo puede sobrevivir en el medio ambiente

te por varios meses, pudiendo penetrar por vía oral, pero la transmisión más frecuente de carnero a carnero en la época de empadre es teniendo a las hembras en celo como vector mecánico (7, 12, 14, 29), la infección se disemina de los carneros portadores en la explotación que gradualmente transmiten la bacteria a los no infectados (6), se menciona también que por medio del contacto prepucial o rectal durante la conducta homosexual observada en la época de no empadre (6, 7, 14, 19, 23), así como al olfatear o lamer orina ó semen infectado (12, 14); siendo éstas -- las razones por las cuales la infección por Brucella ovis permanece en forma enzoótica dentro del rebaño (6). Las ovejas parecen ser más resistentes a la bacteria que los sementales y pueden permanecer infectadas, causarles aborto en raras ocasiones en el último tercio de la preñez ó el nacimiento de corderos débiles. Estos signos nos pueden indicar la presencia de la infección en el rebaño, -- sin embargo, las hembras son consideradas primordialmente como portadoras mecánicas del organismo (7, 31).

El sistema de producción trashumante en ciertas regiones es un factor favorable de transmisión de las enfermedades infecciosas en general (21), ya que los animales de diferentes rebaños pastorean en las mismas praderas.

PATOGENIA

El organismo infectante se encuentra en el semen del carnero infectado y penetra a los carneros susceptibles a través de las membranas mucosas. La transmisión ocurre por medio del coito homosexual, contaminación de agua y alimento, al igual que por el coito heterosexual. Durante las épocas de reposo (no empadre) de los machos donde se reúnen animales viejos y jóvenes susceptibles sucede la infección cuando un macho infectado efectúa montas homosexuales, en las que deposita semen en el recto, piel perineal, lana del carnero montado y otros sementales susceptibles se infectan al montar el mismo animal en rápida sucesión (29).

También durante el estro, una borrega puede cruzarse en sucesión con diferentes carneros y recibir un depósito de semen de cada uno. El semen puede ser depositado en alimento o agua, e ingerido o inhalado por otro carnero susceptible (29). Estas bacterias son capaces de vivir en el suelo, en ambiente seco y protegidas de la luz solar de dos a tres meses y a bajas temperaturas (4°C.) en agua, leche, orina y en otras secreciones puede vivir -- dos años ó más (48).

La transmisión comienza en las membranas mucosas (7, 12), pudiendo permanecer en la superficie de éstas -- por cerca de un mes (14), el patógeno penetra al hospedador llegando a los nódulos linfáticos regionales a través de los vasos linfáticos aferentes. Después causa hiperplasia de las células reticuloendoteliales, algunos organismos pasan a través de los nódulos, entran a la -- sangre, al final del segundo mes (7, 14) y van a todos --

los órganos, localizándose principalmente en el epidídimo, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales (7, 12, 14, 23, 29, 45, 48). La epididimitis clínica puede o no desarrollarse en este tiempo, pero la bacteria puede ser aislada del semen de un carnero que no tenga lesiones clínicas de epididimitis (7). Entre los 30 y los 45 días de la exposición original, el epidídimo empieza a presentar aumento en su tamaño y más o menos a los 60 días regresa a los nódulos linfáticos, bazo e hígado (29). La forma aguda de la enfermedad, la cual es desencadenada por un factor desconocido es generalmente unilateral, caracterizada por el engrosamiento, reblandecimiento y una elevación de la temperatura del contenido escrotal del lado afectado. En la fase crónica de la enfermedad la cola del epidídimo aumenta de tamaño tiene una consistencia firme y el testículo puede atrofiarse, la localización de la bacteria en el epidídimo inicia una serie de cambios alrededor del sitio de la infección, como la acumulación de fluido en el intersticio celular, plasmocitos y linfocitos alrededor de los vasos sanguíneos (1). Leucocitos especialmente neutrófilos junto con la bacteria migran a la luz del epidídimo (29), las células epiteliales obstruyen la luz por la hiperplasia y desarrollan quistes en la pared del ducto epididimal. Se observa acumulación de espermátidas en la proximidad de la oclusión y se extravasan hacia el intersticio provocando reacciones inflamatorias que originarán granulomas, siguiendo la completa oclusión de la luz del epidídimo, los túbulos seminíferos degeneran y el testículo se atrofia (14, 29, 43), siendo los granulomas espermáticos los responsables de las lesiones palpables (14). La calidad del semen varía en número de espermatozoides, leucocitos y bacterias dependiendo en gran medida de las lesiones del epidídimo que pueden ser uni o bilaterales, incrementándose el número de espermatozoides anormales (colas enroscadas y en espiral, cabezas sueltas) (7). La infección

puede persistir por más de 4 años y la bacteria puede excretarse en el semen hasta por un período de más de 2 --- años después de iniciada (7, 29). Otras bacterias piógenas pueden entrar al tejido e inducir abscesos provocando infecciones mixtas (29).

CUADRO CLINICO Y LESIONES.

Después de un período de incubación de cuatro a ---- ocho semanas, aparecen lesiones detectables, aumenta el tamaño del epidídimo, está más firme y el tejido testicular empieza a atrofiarse. Las lesiones principalmente -- ocurren en la cola del epidídimo pero también en la cabeza y cuerpo (29). Los carneros afectados usualmente tienen libido normal, con epididimitis unilateral su fertilidad es baja, pero carneros con infección bilateral son estériles (9, 29). A la necropsia y/u orquiectomía, los cambios están limitados al contenido escrotal. La túnica vaginal se adhiere en uno o más puntos al epidídimo. En estados tempranos de la infección parte del epidídimo está agrandado e indurado y el testículo de tamaño normal y en los estados avanzados el epidídimo infectado es considerablemente más grande y más firme. Al corte del órgano se encuentran granulomas espermáticos con contenido de cremoso a caseoso, fibrosis y en algunos casos abscesos y focos de mineralización, el testículo se atrofia y pierde consistencia, las vesículas seminales aumentan su tamaño endureciéndose (29).

En animales inoculados, experimentalmente, se ha encontrado: edema intersticial con macrófagos y neutrófilos dispersos, agregados focales de macrófagos y linfocitos -- particularmente dentro de los vasos linfáticos dilatados y alrededor de los vasos sanguíneos, ocasionalmente formando acúmulos de más de 10 células, también se observan pocas células plasmáticas. El espacio intersticial está distendido por el exudado serofibrinoso, con marcada in--

filtración perivascular de células inflamatorias mononucleares, agregados focales y neutrófilos dispersos, los vasos linfáticos están dilatados con numerosos linfocitos y macrófagos. Es común observar la migración de leucocitos a través de las paredes de los vasos sanguíneos. La luz del epidídimo se encuentra ocluida en grado variable en algunos segmentos, en el epitelio ductal presenta en su región basal una desorganización y vacuolización edematosa, con infiltración de células mononucleares, necrosis de células epiteliales y algunas figuras mitóticas. Encontrando que en animales vacunados los neutrófilos y macrófagos son más numerosos, el exudado es más fibrinoso en el espacio intersticial, las células mononucleares necróticas presentaron en su núcleo cariorrexis; hiperplasia endotelial de los capilares, neutrófilos aislados infiltrando el epitelio fueron más abundantes en éstos carneros, el edema y necrosis de células epiteliales es más severo en el epitelio ductal. Tanto en inoculados como en vacunados se observó edema subepitelial e infiltración linfocítica en los ductos deferentes y ámpula. En algunos acines de la glándula seminal se encontraron neutrófilos (43).

El tejido intersticial afectado presenta fibroplasia y frecuentemente granulomas espermáticos, el epidídimo puede dilatarse y obstruirse parcialmente con espermátidas y leucocitos. El recubrimiento epitelial hiperplásico forma quistes murales. Los túbulos seminíferos se atrofian en grados variables. Algunos consisten de membrana basal con células de Sertoli y otras de membrana basal colapsada solamente (29).

DIAGNOSTICO

Para el diagnóstico de carneros con Epididimitis es--
necesaria la conjunción de varios procedimientos como son:

- a) Historia Clínica del Rebaño (2, 7, 27, 39, 52);
- b) Exámen Clínico del Animal (2, 3, 6, 7, 15, 19, 27, 39, 45);
- c) Pruebas Serológicas (2, 3, 7, 15, 19, 27, 39, 45);
- d) Evaluación de semen, detección de células inflamatorias y de bacterias (2, 3, 7, 39, 49);
- e) Exámen Bacteriológico de semen (2, 3, 6, 7, 15, -- 19, 27, 39, 45, 49).

Realizando estas pruebas en el animal en vivo y como una ayuda para el diagnóstico integral se recurre a:

- f) Exámen Histopatológico y Bacteriológico de Epidí--
dimo y testículo.

Porque si se utilizará un solo procedimiento, el diagnóstico no sería satisfactorio (2, 3, 7, 15, 19, 27, 28, - 39, 45, 52). Siendo necesario contar con procedimientos - efectivos de diagnóstico para llevar a cabo un adecuado -- programa de prevención, control y erradicación de esta enfermedad (19, 28, 38, 49).

a) Historia Clínica del Rebaño.- Incidencia de la enfermedad en el rebaño y/o en la región, si se han comprado animales sin exámenes previos, introducción de machos recientemente, si se ha vacunado o no contra Brucella ovis, - que vacuna se aplicó, procedencia de los sementales, parámetros reproductivos:

- 1.- Baja fertilidad,
- 2.- Corderos débiles al nacimiento,

3.- Bajo porcentaje de corderos destetados.

b) Exámen Clínico.- Realizar una exploración completa, tomando en cuenta que los animales presentan constantes fisiológicas normales, al igual que el apetito y libido, hacer una comparación con los otros sementales, principalmente a la inspección y palpación de las estructuras escrotales para detectar asimetría de los epidídimos, su forma y consistencia, aumento de volumen, ya sea ligero o acentuado, el deslizamiento de las estructuras contenidas en el escroto, aumento de temperatura local, lesiones características de la enfermedad (3, 27, 39, 45).

c) Pruebas Serológicas.- En la interpretación de los resultados de cualquier Prueba Serológica, es importante conocer la epidemiología y patogénesis de la infección en cuestión (14), así como la historia clínica del rebaño (52)

El diagnóstico serológico de la Brucella ovis presenta algunos problemas por ser una enfermedad compleja (39), entre esas dificultades tenemos:

- 1.- Período de incubación.
- 2.- Infecciones latentes y transitorias.
- 3.- Reactores falsos positivos causados por vacunación y antígenos heteroespecíficos.
- 4.- Reactores falsos negativos.
- 5.- Complejidad de algunos procesos en las técnicas (38).

No ha sido desarrollada una prueba la cual sea ideal, existiendo una gran variedad de pruebas disponibles, cada una con sus ventajas y limitaciones (38).

La Prueba de Fijación de Complemento es la prueba estándar usada para el diagnóstico de Brucella ovis, en forma rutinaria en diferentes partes del mundo (3, 4, 18, 29,

39, 44, 45, 51, 53, 54). Siendo otras Pruebas Serológicas únicamente auxiliares de ésta (54).

A partir de 1955 cuando Clapp describió por primera vez la Prueba de Fijación de Complemento para la Brucella ovis, se han venido desarrollando constantes modificaciones para aumentar la exactitud y eficiencia en la interpretación de esta prueba (21, 43, 45).

Son muchas las variaciones del procedimiento que pueden afectar la sensibilidad y especificidad de la Prueba de Fijación de Complemento (PFC). El método estándar de la PFC para Brucelosis bovina presenta un 25.5% de falsos negativos, cuando se aplica para el diagnóstico de Brucella ovis aunque se utilice antígeno específico de Brucella ovis (45). La calidad de las muestras interfiere con los resultados, es decir, muestras contaminadas o hemolizadas pueden dar sospechosos o falsos positivos (4, 40, 52). Los títulos vacunales persisten por más de 3 años, por lo tanto, interfieren en la interpretación de la Prueba, siendo necesario identificar permanentemente a los carneros vacunados contra Brucella ovis (33, 40). En algunos sueros a diluciones bajas se ha demostrado que hay fijación del complemento en ausencia de antígeno (efecto anticomplementario) (4, 44, 54), también se ha observado que los sueros de ovinos son frecuentemente anticomplementarios, cuando el complemento es obtenido de suero de cuyes y particularmente cuando se trabaja a bajas diluciones (45). Existen infecciones transitorias (4, 28, 38, 44, 53), animales crónicamente infectados con los cuales hay que tener precaución al interpretar los títulos de la prueba (13, 14). Carneros que tienen la infección fuera del tracto genital (nódulos linfáticos, bazo, pulmón, hígado), pueden reaccionar en forma irregular en

la PFC (4, 54). Rahaley (43), reporta que existe la posibilidad de dar falsos positivos debido a reacciones cruzadas con otros organismos, él mostró que en estudios de vacunación de conejos, se puede demostrar una reacción cruzada con Actinobacillus seminis. Van Tonder y Bolton fallaron en demostrar una reacción cruzada en ovinos infectados con otros organismos (13). Los anticuerpos de Actinobacillus seminis y de Escherichia coli no tienen reacción cruzada con Brucella ovis amparando ésto con un número. -- considerable de muestras (45). Veterinarios con poca experiencia en el comportamiento de la enfermedad son los que reportan anomalías en la PFC para el diagnóstico de Brucella ovis (11). Resultados positivos a PFC, con cultivo de semen negativo y sin lesiones palpables, pueden ser debidas a que el animal se encuentra en estadios iniciales de la enfermedad, después de que la infección se establece en el tracto genital o debida a una infección transitoria la cual no involucra los genitales y puede ocurrir en alta proporción de carneros que nunca excretan la bacteria, ni presentan lesión (4). En la PFC hay variación de muestra a muestra, en los títulos de anticuerpos contra Brucella ovis (40, 53), estos títulos permanecen detectables de dos a siete semanas, si el animal se recupera de la enfermedad (infección transitoria), los títulos descienden hasta cero, en un período de cuatro a cinco meses. Si el animal permanece infectado los títulos pueden descender a los niveles base por un período de 6 meses (14). Los animales crónicamente enfermos pueden dar resultados negativos.

Dentro de la PFC existen dos técnicas que son:

- 1.- En frío, y
- 2.- Caliente;

cada una puede realizarse en tubo o en microplacas (13, -

14, 44, 45, 46). No existe una estandarización interna--
cional en cuanto a los títulos para la interpretación de --
la PFC (40), ya que cada laboratorio modifica la prueba --
de acuerdo a la experiencia que han tenido con ella (21).--
La técnica fría de la PFC para Brucella ovis es más sensi--
ble que la prueba en caliente, ya que detecta infecciones--
una semana antes que la técnica en caliente y es más usa--
da para detectar carneros crónicamente infectados, sin em--
bargo, se presentan problemas para la detección de la in--
fección en algunos carneros (13, 14). En la técnica fría,
reactores falsos positivos pueden deberse a la vacunación--
de carneros o como resultado de una inmunidad pasiva adqui--
rida en animales jóvenes (45).

En animales sospechosos a la lectura de PFC, se ha --
aislado Brucella ovis del semen (27). Ris (44) estableció
que los animales que excretan la bacteria en su semen y --
tienen títulos negativos en la técnica en caliente de PFC--
pueden ser detectados usando la técnica en frío en tubo --
(13, 14, 53).

Las razones de las fallas ocasionales sobre la ine--
xactitud de la PFC son desconocidas y existe poca infor--
mación sobre ellas. Algunos clínicos sostienen que la --
prevalencia de los falsos negativos en esta prueba, es al--
ta en los animales crónicamente infectados (53), con sue--
ros que tienen títulos bajos o con sueros de animales con--
infecciones transitorias (44).

En Australia programas basados en estas PFC Modifica--
das han dado una adecuada sensibilidad del 100% (dando po--
cos falsos negativos)(40, 51, 52), y especificidad del ---
99.9% (dando pocos falsos positivos) (15, 51, 52), logran--
do un mayor control de esta enfermedad (45), sin embargo,--

muchos investigadores no aceptan los falsos positivos y - falsos negativos de esta Prueba, por lo que han probado - otras técnicas que presentan ventajas y limitaciones, con las cuales se pueda dar un diagnóstico más acertado, ---- entre ellas están: La Inmunofluorescencia (Cox 1977), Inmunodifusión en gel (15, 17, 46, 53, 54), Inhibición de - la Hemaglutinación (Ris 1963) (49), Inmunodifusión Indi--recta (15), Prueba de ELISA (16, 20, 39, 44, 46, 53, 54), Inmunodifusión Radial (17), Pruebas alérgicas (20, 46), - Seroaglutinación, Inmunolectroforesis (20), Anticuerpos-Fluorescentes (46), dando mayor énfasis a la Prueba de -- ELISA(39).

Algunas desventajas de la PFC son: la necesidad de - hacer varias diluciones dobles de suero, inactivación de los sueros por medio de calor que puede destruir algunos-anticuerpos, Alton (3) antes de efectuar la prueba, sue--ros anticomplementarios y la necesidad de utilizar Comple--mento de alta calidad (44, 46). La Prueba de ELISA tiene la ventaja de dar claros resultados con sueros hemoliza--dos o anticomplementarios y también da una cantidad esti--mada de la concentración de anticuerpos en una simple di--lución de suero, además no requiere la inactivación de -- suero. Un ahorro considerable puede hacerse en reacti---vos, equipos de dilución, baños maría para inactivación y placas de microtitulación si se usa ELISA en lugar de la-PFC. Por otra parte la Prueba de ELISA requiere placas - de lectura y un cálculo de resultados más complejo, que - puede tener un costo relativamente más alto para los labo--ratorios donde ésta prueba no este establecida (20, 44).- La PFC tiene la ventaja de ser un método establecido que--es ampliamente aceptada como la Prueba de Diagnóstico Es--tándar par la Brucella ovis en carneros (54). En un futu--ro ELISA puede ser la prueba de elección (54), sin embargo, esta-

prueba a pesar de ser muy sensitiva su valor diagnóstico depende del antígeno seleccionado (16). Esta prueba demuestra tener una medida más real de anticuerpos específicos de Brucella ovis que la PFC en sus dos variantes (46). ELISA predominantemente detecta IgG (1, 43), IgG₁ e IgG₂ (53, 54). Los títulos de anticuerpos en la PFC son cerca de 100 veces mayores para IgM que para IgG (1), la PFC solo mide IgG₁ (54). ELISA puede ser adaptada para medir IgM eficientemente (54).

Experimentalmente animales que resultaron negativos a PFC fueron positivos a la Prueba de ELISA, existiendo la posibilidad de que éstos animales tengan un exceso de anticuerpos IgG₂ los cuales no reaccionan en la PFC (53).

La Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA) puede detectar una clase diferente de anticuerpos. En ovinos IgG₁ es el anticuerpo predominante para la PFC mientras que IgM e IgG₂ participan en reacciones de aglutinación (49). La Prueba de IHA es más sensible para diferenciar claramente entre aquellos animales que tienen títulos negativos y los que tienen títulos bajos. Sin embargo, esta prueba es raramente usada (44).

La Prueba de Inmunodifusión en Gel es la más simple y sencilla pero es la menos sensible (15). Experimentalmente se ha demostrado que existe correlación entre la PFC y la Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta, se sugiere una combinación de éstas pruebas para utilizarla en el diagnóstico de Brucella ovis. La Inmunofluorescencia Indirecta es una prueba menos afectada por la contaminación del suero o por la hemólisis, además de distinguir entre una infección reciente y una crónica ya que ésta prueba tiene una respuesta específica hacia IgM (15).

d) Exámen Bacteriológico.- La significancia de algunas pruebas serológicas para Brucella ovis en una infección natural, es difícil de evaluar porque no siempre se puede determinar si un animal está infectado. Los signos clínicos pueden no desarrollarse en todos. En muchas ocasiones se pueden tener diferentes resultados del diagnóstico serológico y ser el cultivo de la bacteria el confirmativo (15), pero en forma experimental no se ha logrado aislar la bacteria de todos los animales inoculados (15). En otros estudios se ha logrado aislar de semen Brucella ovis desde la quinta semana de la infección en el 97% de los animales estudiados (49). Las colonias son visibles de los 3 a 6 días de incubación (2, 7, 15, 19, 49). Del 87.9% de las muestras de otro estudio se logró aislar la bacteria del semen, entre éstos animales se encontraron en los que siempre se aisló, algunos en los que se aisló irregularmente (20% - 69%) y otros que al parecer eliminaron la infección (53).

Se ha demostrado que los carneros pueden estar eliminando Brucella ovis en su semen cuando al exámen clínico - todavía no hay cambios patológicos (49). Así también en aquellos animales con epididimitis no siempre se excreta el microorganismo (14). La proporción de carneros infectados naturalmente de los que se recobra Brucella ovis no ha sido investigada adecuadamente (14).

Animales naturalmente infectados pueden presentar epididimitis y excretar Brucella ovis en su semen o solamente demostrar respuesta serológica por un corto tiempo y después revertir al estado serológico negativo. La demostración de animales con títulos positivos a Brucella ovis que revierten al estado negativo sugiere que la eliminación de la enfermedad puede ocurrir. La reinfección de los --

carneros después de una aparente recuperación también ha sido demostrada (14). Es muy común que los sementales serológicamente positivos sean excretores cuando provienen de rebaños que han permanecido infectados por largo período de tiempo (14). Existen problemas para encontrar y diferenciar el microorganismo de sedimentos y de semen de consistencia acuosa en casos avanzados de epididimitis (49).

El aislamiento y la identificación del germen constituye el único método de diagnóstico exento de error; sin embargo, los resultados negativos del cultivo en semen no basta para descartar la infección con Brucella ovis. En el caso de algunos animales con infección crónica el microorganismo puede no aparecer en el semen, o encontrarse en él intermitentemente. Acaso también será difícil obtener muestras de semen no contaminadas con otros germenos cuyo desarrollo sea superior al de Brucella ovis (3).

El medio selectivo empleado con eficacia para aislar otras especies de Brucellas inhibe la proliferación de Brucella ovis. El descubrimiento reciente de medios selectivos para aislar ha hecho del aislamiento de esta Brucella una técnica de aplicación práctica y generalizada (3).

En infecciones experimentales se ha detectado Bruce--lla ovis en semen después de la cuarta semana en un 30% de los animales estudiados y en todos los carneros a partir de la 27a. semana, la bacteria fue detectada mediante la técnica de Zielh-Nielsen modificada (49), la presencia de bacteria puede ser detectada con un alto grado de exactitud mediante el empleo de esta técnica, ya que no siempre es posible aislar de semen a la bacteria (4, 52).

Se ha reportado que hay Pruebas de Inmunofluorescencia Específica en semen, que ofrecen una efectiva medida para un acertado y rápido diagnóstico en epididimitis bacteriana antes de detectar lesiones (2).

Brucella ovis es la bacteria más comúnmente aislada de semen y de tracto reproductivo de sementales, no así de carneros vírgenes con epididimitis (6, 25).

Ha sido señalado con frecuencia el aislamiento de gran número de Brucella ovis en estados tempranos de la enfermedad a partir de riñón y orina (12), es necesario procesar la muestra para bacteriología lo más rápido posible ya que en uno o dos días la viabilidad de la bacteria disminuye (3, 49).

El microorganismo ha sido aislado de animales sacrificados a partir de pulmón, riñón, bazo, testículo, nódulos linfáticos iliacos, medio, sacro, inguinal externo, medias tónicas y mesentéricos, ducto deferente, hígado, pero más frecuentemente de epidídimo y glándulas accesorias sexuales (43, 45, 53).

e) Evaluación de semen.- La epididimitis causada por Brucella ovis disminuye la calidad del semen y por lo tanto, reduce la fertilidad en los carneros infectados (5, -- 49), esto se puede reflejar en la baja de espermatozoides, aumento de leucocitos y presencia de bacterias (5, 19, 23, 24, 29). Las principales células inflamatorias encontradas en el semen son las polimorfonucleares y en pequeña proporción los leucocitos mononucleares, detectándolos con tinción de Leishman ó Giemsa, en infecciones experimentales (49).

CONTROL Y PROFILAXIS

El control de la Brucella ovis ha concernido a Veterinarios desde 1952, cuando Mc Farlane y Col aislaron al organismo de genitales y semen de un carnero enfermo (51).

Los programas de control están basados en:

- 1.- Detección y remoción de carneros infectados,
- 2.- Compra o adquisición de sementales de reemplazo - que provengan de rebaños no infectados,
- 3.- Vacunación (7).

Y encaminados únicamente hacia los sementales (7). --

Al eliminar muchos con lesiones palpables reduce progresivamente la incidencia anual, pero no elimina la enfermedad del rebaño (6).

La eficacia de la vacunación no ha sido bien definida (7, 10). Algunos productores empiezan a utilizar sacrificio combinado con la vacunación contra Brucella ovis como método de control, sin embargo, no hay datos suficientemente evaluados, ni comparados de estos sistemas de manejo -- (6).

Métodos efectivos de vacunación fueron desarrollados por Buddle, inoculando sementales simultáneamente con Brucella abortus cepa 19 (activada) y Brucella ovis inactivada ó dos inoculaciones de Brucella ovis inactivadas dadas entre las ocho o veinticuatro semanas después de la primera inoculación. Estos métodos de inmunización fueron ampliamente usados, pero secuelas desfavorables hicieron que disminuyera esta práctica en gran parte de los -----

criadores (51). El principal problema fué la frecuencia de lesiones subcutáneas desagradables en el sitio de la - inyección, además de abscesos perirrenales e intramuscu-- lares en los vacunados por vía intraperitoneal (42, 43).- se les provocaba laminitis y epifisitis en un 75% de los- animales (50, 51). Así como la localización de la cepa - 19 en los genitales de una pequeña proporción de carne--- ros, con persistencia del organismo, en el semen por perio-- dos prolongados (30, 50, 51). En otros estudios se ha lo-- grado aislar Brucella ovis del semen de carneros vacuna-- dos (4).

La vacunación de carneros con Brucella melitensis vi-- va (Rev. 1) está prohibida actualmente en los Estados Uni-- dos (1), al igual que en Francia (21). Experimentalmen-- te la eficacia de la vacunación con esta cepa no protege-- 100% contra Brucella ovis (22). Se ha demostrado que una alta proporción de carneros vacunados con vacuna mixta de Brucella ovis y Brucella abortus cepa 19 permanecieron po-- sitivos a la PFC (Prueba de Fijación de Complemento) por-- periodos de más de 2 años, lo cual interfiere con programa-- s de erradicación de la enfermedad (33). Al probar nue-- vos adyuvantes para la vacuna se ha visto que tampoco pro-- tege el 100%, ya que al desafiar a los animales se ha lo-- grado aislar la bacteria del semen y los animales presen-- tan lesiones palpables de epididimitis (1).

No ha sido estudiado el porcentaje de fertilidad en-- los carneros vacunados (28).

Experimentalmente se ha tratado de explicar las le-- siones de los animales vacunados como se describe a conti-- nuación: Son muchos los caminos en los cuales la inmuoes-- timulación puede aumentar la quiomiotaxis de neutrófilos:

a) Un tipo III de reacción de hipersensibilidad puede resultar de la activación de la cascada del complemento durante la interacción Ag-Ac (Tizard, citado por 43).-- Componentes específicos del complemento particularmente - C₅a son quimiotácticos para neutrófilos (Ward citado por 43) y el tejido local resulta dañado por la degradación - neutrofílica;

b) La vacunación estimula la respuesta celular (Hood citado por 43) y un mecanismo alternativo para incrementar la respuesta de neutrófilos, tal como la liberación - de linfoquinas quimiotácticas;

c) La Bacteria es quimiotáctica para neutrófilos ya sea directamente o por la vía alternativa de la activación del complemento (43).

La respuesta inflamatoria a la extravasación del ducto epididimal es más intensa en carneros vacunados. Incrementando los neutrófilos y macrófagos alrededor de los espermatozoides y a su vez aumenta la fibroplasia periférica (4).

La vacunación con bacterina de Brucella ovis emulsificada con aceite no es compatible con programas de erradicación en donde se utiliza la Prueba de Fijación de Complemento para el diagnóstico de la enfermedad (4). Otros trabajos reportan una sobre correlación entre el título - de anticuerpos y una subsecuente resistencia de los semen tales a la Brucelosis, sugiriendo que los anticuerpos cir culantes son de poca significancia en la resistencia de - la enfermedad (43).

Para un adecuado control y profilaxis habrá que contemplar lo antes discutido y poner interés especial.

- 1.- Evitar la entrada de animales infectados al rebaño.
- 2.- Realizar Pruebas Clínicas y de Laboratorio a los animales de nueva adquisición antes de introducirlos al rebaño.
- 3.- Comprobar que el rebaño de origen no tenga la infección.
- 4.- Se debe evitar aquellas prácticas de manejo en las que los machos jóvenes tengan contacto con los adultos (6).

Los programas de erradicación basados en la vacunación presenta muchas dificultades. Teóricamente se habla de una erradicación. Como se ha comentado anteriormente un gran número de carneros ha desarrollado epididimitis causada por Brucella ovis después de la vacunación y además se ha aislado el microorganismo en su semen (28). Títulos vacunales pueden interferir con la Prueba de Fijación de Complemento que es muy utilizada en los programas de erradicación en los rebaños comerciales (28), por lo que es importante saber si se ha vacunado contra Brucella ovis (33,40). Hay sin embargo, dificultades en los programas de erradicación en rebaños con alta prevalencia de la enfermedad, debido a la epidemiología de la enfermedad y al justificar el costo de los programas a los dueños de los rebaños (28). El uso de la Prueba de Fijación de Complemento y el sacrificio de los carneros que tienen títulos positivos son de gran ayuda en los programas de erradicación, al igual que la eliminación de animales con lesiones palpables (7, 53). Otro sistema que puede considerarse para la erradicación es el sacrificio de todos los carneros expuestos a animales infectados, con título positivo ó lesiones palpables, y reemplazarlos por carneros que no hayan tenido contacto con sementales de mayor edad (6).

Se recomienda remuestrear a los animales con títulos sospechosos en la Prueba de Fijación de Complemento de 2- a 4 semanas después del primer muestreo (13).

El pequeño número de sueros que presente dificultades en la Prueba de Fijación de Complemento pueden ser -- procesados con ELISA para aumentar la eficacia en el programa (53). Se recomienda el chequeo serológico de los machos dos veces al año con la Prueba de Fijación de Complemento, ó antes de la época de cría (7).

O B J E T I V O S

- 1.- Establecer la prevalencia de la Epididimitis Ovina - causada por Brucella ovis en 19 explotaciones estudiadas en el Estado de México.
- 2.- Llegar a un diagnóstico confirmativo de la enfermedad en dichas explotaciones realizando:
 - a) Métodos de Exploración Clínica.
 - b) Procesamiento de las muestras serológica y bacteriológicamente.
 - c) Descripción patológica de los casos encontrados - de Epididimitis Ovina causados por Brucella ovis.
- 3.- Determinar el tipo de Exámen (es) necesario (s) para dar como positivo un individuo a Brucella ovis.

MATERIAL Y METODOS

I. MATERIAL BIOLÓGICO.

Se estudiaron 19 rebaños ovinos, localizados en diferentes Municipios del Estado de México; los que se describen en el siguiente cuadro:

REBAÑO - NO.	PROPIETARIO DEL REBAÑO	MUNICIPIO	EDADES - HRAS	NO. MACHOS	EDADES PROMEDIAS DE SEMENALES.	R A Z A	NO. MACHOS ESTUDIADOS
1	FES-C	QUAUTITLAN IZCALLI	--	10	> 4	SUFFOLK RAMEOUILLET ROMNEY MARCH	10
2	FOMEC "EL GUARDA"	SAN FELIPE DEL PROGRESO	560	80	1a > 4	MERINO RAMEOUILLET F 1 *	25
3	FOMEC "EL HERRERA"	TEPEACA	200	11	1a > 4	SUFFOLK	11
4	FOMEC "EL PARAISO"	JILOTEPEC	850	50	1a > 4	LINCOLN SUFFOLK	38
5	STA. ELENA	TEOLOXUCAN	550	11	2a 4	RAMEOUILLET	11
6	EL SACRIFICIO	TEOLOXUCAN	110	3	1a 4	SUFFOLK	3
7	EL BETON	TEOLOXUCAN	85	1	3	SUFFOLK	1
8	LA PALMA	MELCHOR O.	230	3	4	SUFFOLK RAMEOUILLET	3
9	LA TRINI	MELCHOR O.	250	6	1a + 4	SUFFOLK RAMEOUILLET	6
10	SR. RAFAEL SANTOS	RIO FRIO	50	3	1 y 4	SUFFOLK CRIOLLO	3
11	SR. CELESTINO CELSO	RIO FRIO	70	2	1a 2	SUFFOLK ENCASTRANSUFFOLK	2
12	FELIPE ANTONIO	RIO FRIO	24	1	1	CRILLO	1
13	FELIPE NOLASCO	RIO FRIO	25	2	1	CRILLO ENCASTRANSUFFOLK	2
14	LEONARDO MARQUINA	RIO FRIO	35	1	4	SUFFOLK	1
15	RODOLFO MORENO	RIO FRIO	20	1	3	CRILLO	1
16	SR. FELIPE OVALLE	RIO FRIO	45	1	4	CRILLO	1
17	HILDA PEREZ	RIO FRIO	30	2	1a + 4	CRILLO	2
18	ANTONIO CABALLERO	RIO FRIO	40	1	4	SUFFOLK	1
19	"LA ALBURADA"	ZUMANGUO	300	13	1a 4	POULBEEY	13

II.- MATERIAL PARA TOMA DE MUESTRAS.

SUERO: Tubos Vacutainer de 10 ml, Aguja para Vacutainer calibre No. 20 y Gradilla.

BACTERIOLOGICO:

De Semen: Aparato para Electroeyaculación adaptado para carneros, colector de Semen (estéril) y refrigerante.

De Tejido: Frasco estéril y papel aluminio para toma de órgano completo, material quirúrgico necesario para Orquiectomía incluyendo Emasculador.

METODOS.

Se trabajó únicamente con animales que ya habían sido utilizados como Sementales. El Exámen Clínico y Muestreo-Serológico se llevaron a cabo del 11 de marzo al 20 de --- abril de 1986. Los sementales de cada explotación fueron muestreados en su totalidad cuando no eran más de 13 y en caso contrario se muestreaba al azar un lote de ellos.

I. EXAMEN CLINICO.

La enfermedad se diagnóstico clínicamente mediante la inspección y la palpación del aparato reproductor. Por detrás del animal se sujetaban los dos testículos, inspeccionándolos y palpándolos simultáneamente, comparando la simetría, tamaño, forma, consistencia, elasticidad y desplazamiento dentro de la bolsa escrotal. La inflamación del epidídimo se manifestó por aumento de volumen, ligero o acentuado y mayor consistencia (firme y hasta duro), relacionando ésto con la edad de la lesión y la cantidad de tejido fibroso presente. La inflamación afecta casi siempre la cola del epidídimo unilateralmente, con menos frecuencia el cuerpo y la cabeza del epidídimo, es muy raro encontrar afectados bilateralmente los epidídimos, por lo

que se trataba de detectar cualquier diferencia entre ----ellos, la hendidura que separa la cola o la cabeza del epidídimo del testículo con frecuencia estaba obliterada y a veces había atrofia testicular. Todos los sementales fueron explorados de los testículos por inspección y palpación en busca de los signos clínicos que caracterizan a esta enfermedad (3, 7, 41).

II. MUESTREO SEROLOGICO.

La sangre fue obtenida por punción en la vena yugular con aguja vacutainer, asegurándose de que estaba bien colocada la aguja aplicabamos el tubo a ésta, obteniendo aproximadamente 8 ml. de sangre, se identificaba el tubo, se colocaba en una gradilla en posición vertical y se dejaba reposar a temperatura ambiente para esperar la retracción del coágulo. Para clarificar los sueros se centrifugaban las muestras a 2500 rpm por 5 minutos, congelándolas a ---20°C. hasta su procesamiento con la Prueba de Fijación de Complemento, técnica en caliente (descrita por Alton 3),* con antígeno de Brucella abortus, y la Prueba de Inmunodifusión Radial con antígeno Poly B de Brucella melitensis - (descrita por Chin 16)*.

III. OBTENCION DE SEMEN.

Se tomó muestra de semen de los carneros que presentaban lesiones clínicas y título positivo a la Prueba de Fijación de Complemento (antígeno de Brucella ovis). Se utilizó aparato electroeyaculación adaptado para carneros con una capacidad de 120 Volts con salida de 12 Volts y de 6 - Volts con interruptor controlable.

* Realizadas en el Departamento de Serología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

° Realizadas por el Departamento de Microbiología de Tecamac.

Sujetando al animal y colocándolo en posición sentado, se lavaba y preparaba el prepucio. Desdoblado la -- flexura sigmoidea se protrufa el pene sujetándolo alrededor de la base del glande con una gasa estéril y se colocaba el cono del tubo colector también estéril.

La electroeyaculación se iniciaba con descargas de 6 Volts espaciadas cada 3 segundos con descansos, hasta que fluía líquido seminal y se cambiaba a 12 Volts con descargas interrumpidas hasta la obtención de semen. Los tubos eran sellados asépticamente identificados y remitidos (en refrigeración) al Laboratorio de Bacteriología de las siguientes Instituciones: 1) Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) (SARH); 2) Subdirección de Referencia en Salud Animal, Tecamac ---- (SARH); 3) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, (UNAM).

IV. OBTENCION DE MUESTRAS DE TEJIDO.

Se practicó técnica quirúrgica para la orquiectomía en 3 sementales, se disecó el escroto y se obtuvo el testículo con las tunicas vaginales, realizando cortes para observar las lesiones macroscópicas y tomando muestras de aproximadamente 1 cm³, para histopatologías (enviándolas al laboratorio de la Facultad de Estudios Superiores Cuauhtitlán, para su procesamiento). El resto del órgano se colocó en un recipiente de vidrio estéril y se envió al Departamento de Bacteriología del INIFAP, para el aislamiento de Brucella ovis. Sólo se muestrearon los machos con cuadro clínico, positivos a las Pruebas Serológicas (Prueba de Fijación de Complemento con antígeno de Brucella ovis) y que además el dueño de la explotación comercial aceptará la intervención en su o sus sementales.

V. METODOS DE LABORATORIO.

Pruebas Serológicas.- La Prueba de Fijación de Complemento fue elegida por ser la Prueba Estándar para el diagnóstico de Brucella ovis en carneros.

Las Pruebas para Brucella abortus y Brucella melitensis son las utilizadas en forma rutinaria para el diagnóstico de Brucelosis en la Subdirección de Referencia en Salud Animal, Tecamac (SARH).

Exámen Bacteriológico.- En medio selectivo empleado con eficacia para aislar otras especies de Brucellas inhibe la proliferación de Brucella ovis (3). En el Departamento de Bacteriología del INIFAP Palo Alto, fue elegido un medio selectivo (para Haemophilus), que a continuación se describe: A partir de las muestras de semen y de tejido de epidídimo, se sembró en agar chocolate, teniendo como base agar infusión corazón, suplementado con 10% de suero equino, 0.5% de extracto de levadura y 10% de sangre de Bovino y se incubaron en velobiosis a 37°C. durante 7 días. Creció, se purificó y se realizaron las pruebas de identificación bioquímicas con catalasa, urea, oxidasa, crecimiento en tionina y crecimiento en eritritol.

En el Departamento de Bacteriología de la Subdirección de Referencia en Salud Animal de Tecamac (SARH), para diagnosticar Brucella ovis, se utilizó el medio Bordet Genou con antibiótico, el que contenía:

Agar base Bordet-Genou	36 gr.
Glicerol A. R.	10 ml.
Agua destilada C.B.P.	1000 ml.
PREPARADO EL MEDIO SE LE ADICIONA:	
Vancomicina	300 mg.

Colistimetato de Sodio	700 mg.
Nistatina	12500 U.
Agua estéril	10 ml.

ADEMAS DE:

Suero equino	10% V/V
--------------	---------

En este medio se incubó a 37°C. por 7 días, en una atmósfera que contenía 10% de CO₂.

Otros medios de cultivo utilizados fue agar sangre a 37°C. por 3 días, con las siguientes pruebas: para Pseudomona aeruginosa Motilidad, oxidasa, pigmento Pyrocyanina, crecimiento en Mc Konkey, crecimiento en KCM, Pruebas de carbohidratos: glucosa, maltosa, manitol, producción de nitratos y nitritos y prueba de urea; para Corynebacterium ovis catalasa, hemolisis, leche tornasolada, reducción de nitratos, urea, almidón, Acido de: glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa y morfología colonial.

Para Actinobacillus seminis se utilizó el medio de Gelosa Sangre 48 horas a 37°C. en el Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de C.U. las pruebas bioquímicas empleadas para la identificación de esta bacteria fueron: Hemólisis, Oxido fermentación, Catalasa, Oxidasa, TS, urea, SIM, Citrato, tinción especial Ziehl Niglsen modificada y crecimiento en Mc Konkey.

VI. METODO PARA IDENTIFICAR LA EDAD:

Borrego con palas permanentes, 1 año; borrego con palas y primeros medianos permanentes, 2 años; borrego con palas y todos los medianos permanentes, 3 años; borrego con todos los dientes permanentes "Boca hecha", 4 años; borrego con todos los dientes permanentes y desgastados, 4 años.

RESULTADOS

Al Exámen Clínico se encontró que 36 sementales ---- (26.66%) de los 135 muestreados presentaban anomalías en el contenido de la bolsa escrotal. Estas anomalías fueron: Aumento de tamaño del epidídimo (con mayor frecuencia en la cola, aunque también se presentaron en cabeza y cuerpo), el cual era de ligero a 3 ó más veces que su homólogo, pudiendo ser observado a la simple inspección; epidídimos firmes, endurecidos; asimetría testicular, testículos con falta de tono; cordón espermático engrosado -- (Anexo 1).

En cuanto a los resultados serológicos obtenidos en la Prueba de Fijación de Complemento (PFC) con antígeno de Brucella ovis (Anexo 1), se observa que 18 sementales ---- (13.33%) tuvieron títulos positivos (dando como positivos aquellos títulos iguales o mayores a 1:40); 54 animales -- (40%) presentaron títulos sospechosos (1:20) y 63 carneros (46.67%) fueron negativos a la Prueba (Cuadro 4).

De los 19 rebaños muestreados 9 (47.37%) tienen reactores con títulos positivos a la PFC; 6 rebaños (31.58%) -- tienen animales con títulos sospechosos y 4 rebaños ----- (21.05%) no presentaron reactores a esta Prueba (Cuadro 4).

En la PFC con antígeno de Brucella abortus y la de Inmunodifusión Radial con antígeno de Brucella melitensis -- (Poly B), todos los sementales fueron negativos.

Con respecto al Exámen Bacteriológico de Semen, se -- aislaron las siguientes bacterias: Corynebacterium ovis, -

Pseudomona acuruginosa y Actinobacillus seminis (Cuadro 2, 6, 7 y 8).

A la orquiectomía se observaron las siguientes lesiones macroscópicas: Asimetría de epidídimos y testículos, - engrosamiento y adherencias de las tunicas vaginales, adhe-
rencias entre el epidídimo, túnica vaginal y testículo ---
afectado, granuloma espermático, exudado amarillo cremoso, fibrosis en la cola del epidídimo.

De las muestras de tejido epididimal se logró aislar-
Brucella ovis y Actinobacillus seminis (Cuadro 2 y 6).

Al Exámen Histopalológico se observaron lesiones caracte-
rísticas de una epididimitis como son: infiltración de -
leucocitos en la luz epididimal, oclusión de la luz del --
epidídimo en algunos segmentos, presencia de células multi
nucleadas del tipo de cuerpo extraño, extravasación de es-
permatozoides a la luz del epidídimo, destrucción epite---
liar del túbulo epididimal, formación de quistes intramura
les y fibrosis.

De los 36 animales con lesiones clínicas en epidídi--
mo, únicamente 8 sementales (5.9%*), tuvieron título posi-
tivos a la PFC (Brucella ovis); 14 animales (10.4%*) pre--
sentaron títulos negativos (Cuadro 5).

99 sementales no presentaron lesión clínica de epidí-
dimitis y al exámen serológico resultaron 10 carneros ----
(7.4%*) con títulos positivos; 39 animales (28.9%*) con tí-
tulos sospechosos y 50 sementales (37%*) negativos (Cuadro
5).

De los carneros muestreados se obtuvo que tanto clíni-
ca como serológicamente la edad más afectada fue la de ma-
yores de 4 años (Cuadro 2, 3 y 4).

En este trabajo se encontró un 13.33%* de prevalencia serológica (reactores positivos a la PFC con antígeno de - Brucella ovis) y .74%* de prevalencia confirmada (mediante el aislamiento de la bacteria) de Brucella ovis.

* Del total de los sementales muestreados.

Cuadro 1. Resultado del Exámen Bacteriológico de las muestras de semen y/o tejido de los sementales que presentaban cuadro clínico y título positivo a la PFC.

NO. DE REBAÑO.	NO. DE MUESTRA.	C U L T I V O	
		SEMEN	TEJIDO EPIDIDIMAL
1	5	(-)	(-)
3	36	(-)	(*)
	40	<u>Pseudomona acuruginosa</u>	(*)
	44	<u>Actinobacillus seminis</u>	<u>Actinobacillus seminis</u>
4	67	(-)	(*)
5	88	<u>Corynebacterium ovis</u>	(*)
8	101	(-)	<u>Brucella ovis.</u>
9	108	(-)	(*)
TOTAL 6 REBAÑOS 8 SEMENTALES		(5.98%)	

(-) Resultados negativos al cultivo.

(*) No se orquiectomizaron.

Cuadro 2. Prevalencia de lesiones detectables clínicamente en los Rebaños estudiados, por edad.

NO. DE REBAÑO.	NO. SEMENTALES (Prevalencia por edad +)					TOTAL DE SEMENTALES.	PREVALENCIA POR REBAÑO.	
	1°(%)	2°(%)	3°(%)	4°(%)	≥4°(%)		NO.	(%)
1					2 (20)	10	2	20
2					2 (8)	25	2	8
3				2(18.18)	3(27.27)	11	5	45.45
4		6(13.16)	1(2.63)	2(5.63)	3(7.89)	38	12	31.57
5		2(18.18)	2(18.18)			11	4	36.36
6					1(33.33)	3	1	33.33
7						1	0	0
8				1(33.33)		3	1	33.33
9		1(16.66)		1(16.66)	1(16.66)	6	3	49.98
10		1(33.33)				3	1	33.33
11	1(50)					2	1	50
12	1(100)					1	1	100
13	1(50)					2	1	50
14						1	0	0
15						1	0	0
16						1	0	0
17						1	0	0
18						1	0	0
19		1(7.69)	1(7.69)			13	2	15.3
TOTALES - DE SEMENTALES - POR EDADE.	3(2.2)	11(8.15)	4(2.96)	6(4.4)	12(8.8)	135	36	26.68

* Prevalencia expresada en porcentaje

° Edad (en años).

Cuadro 3. Sementales positivos, sospechosos y negativos a la PFC contra Brucella ovis por rebaño y por edad.

REBAÑO	*P) POSITIVOS	NO. DE ANIMALES (EDAD)		TOTALES		
		(°S) SOSPECHOSOS	(+N) NEGATIVOS	*P	°S	+N
1	1 (+4)	2 (+4)	7 (+4)	1	2	7
2		2 (1) 3 (2) 6 (+4)	9 (1) 4 (2) 1 (+4)		11	14
3	5 (+4)	1 (1) 2 (4) 3 (+4)		4	6	
4	1 (+4)	6 (2) 3 (3) 2 (4) 2 (+4)	1 (1) 14 (2) 2 (3) 4 (4) 3 (+4)	1	13	24
5	1 (2)	2 (2) 6 (3)	1 (2) 1 (3)	1	8	2
6		2 (1) 1 (4)			3	
7		1 (3)			1	
8	2 (4)		1 (4)	2		1
9	1 (2)	1 (1) 1 (4) 1 (+4)	1 (4) 1 (+4)	1	3	2
10			2 (2) 1 (4)			3
11			1 (1) 1 (2)			2
12			1 (1)			1
13		1 (1)	1 (1)		1	1
14		1 (+4)			1	
15	1 (3)			1		
16			1 (4)			1
17	1 (2)		1 (+4)	1		1
18		1 (+4)			1	
19	1 (2) 3 (3) 1 (+4)	1 (2) 1 (3) 1 (4) 1 (4)	2 (1) 2 (2)	5	4	4
TOTAL	18	54	63	18	54	63
(*P) POSITIVO		(°S) SOSPECHOSOS	(+N) NEGATIVOS.			

Cuadro 4. Número de Sementales positivos, sospechosos y negativos a la PFC contra Brucella ovis por edad y su prevalencia serológica.

EDAD AÑOS	POSITIVOS (%+) NO. (%)	SOSPECHOSOS (%+) NO. (%)	NEGATIVOS (%+) NO. (%)
1		7 (5.2)	15 (11.1)
2	4 (3)	12 (8.8)	24 (17.8)
3	4 (3)	11 (8.2)	3 (2.2)
4	2 (1.5)	7 (5.2)	8 (5.9)
+4	8 (5.9)	17 (12.6)	13 (9.6)
TOTAL	18 (13.33)	54 (40)	63 (46.67)

+ Prevalencia expresada en porcentaje.

Cuadro 5. Número de Sementales positivos, sospechosos y negativos a la PFC contra Brucella ovis con y sin lesiones detectables por Rebaño.

NO. DE REBAÑO	POSITIVOS		SOSPECHOSOS		NEGATIVOS	
	C/L ⁺	S/L ^o	C/L ⁺	S/L ^o	C/L ⁺	S/L ^o
1	1			2	1	6
2			2	9		14
3	3	2	2	4		
4	1		3	10	7	17
5	1		3	5		2
6			1	2		
7				1		
8	1	1				1
9	1		2	1		2
10					1	2
11					1	1
12					1	
13					1	
14				1	1	
15		1			1	
16						1
17		1				1
18				1		
19		5	1	3		3
TOTAL	8	(5.9)10(7.4)	14	(10.4)39(28.9)	14	(10.4)50(37)

+ CON LESIONES DETECTABLES (número de animales).

o SIN LESIONES DETECTABLES (número de animales).

* PORCENTAJE.

Cuadro 6.

Identificación de Actinobacillus seminis.

Identificación de la colonia: COCOBACILO GRAM NEGATIVO (S), Tamaño de la colonia en 24 horas 0.25 mm de diámetro, descripción forma de rocio.

Hemolisis	-
Tinción especial	ZIEL NIELSEN MODIFICADA -
Oxido fermentación	-
Catalasa	+
Crecimiento en McKonkey	-
Oxidasa	Débil
TS ₁	-
Urea	-
SIM	-
Citrato	-

Cuadro 7.

Identificación de Pseudomona aeruginosa.

Motilidad	+
Oxidasa	+
Pigmento pyocianina	+
Crecimiento en McKonkey	+
Crecimiento en KCN	+
Carbohidratos:	
Glucosa	+
Lactosa	-
Maltosa	-
Manitol	+
Reducción de nitratos y nitritos	+
Urea	+

Cuadro 8.

Identificación de Corynebacterium ovis.

Catalasa	+
Hemólisis	V°
Leche tornasolada	Nc°
Reducción de nitratos	V
Urea	+
Almidón	+
Carbohidratos:	
Glucosa	+
Lactosa	V
Maltosa	+
Sacarosa	V

D I S C U S I O N

De los 135 carneros muestreados el 26.66% (36 sementales) se encontraron con lesiones clínicas características de epididimitis (Anexo 1 y Cuadro 1), principalmente afectando a la porción caudal del epidídimo, con aumento de volumen en grados variables, la literatura sugiere que las infecciones tempranas cursan en ocasiones sin lesión clínica aparente o con lesión mínima palpable; mientras que el gran aumento de volumen en epidídimo detectado por inspección es más sugestivo de lesiones crónicas (Cox 15).

La prevalencia serológica del total de los sementales estudiados (13.33% positivos y 40% sospechosos a la Prueba de Fijación de Complemento PFC con Brucella ovis), aunado a la prevalencia serológica por rebaño (47.37% positivos y 31.58% sospechosos) (Cuadro 4 y 5), es demasiado elevada para una enfermedad recientemente reportada en nuestro País. Esto puede deberse a la importación masiva de animales de países donde se tiene una gran incidencia de Epididimitis ovina causada por Brucella ovis (Pérez 41) ó la falta de Diagnóstico en el pasado.

El Laboratorio de Tecamac realizó las Pruebas de Fijación de Complemento con antígeno de Brucella abortus y la Prueba de Inmunodifusión Radial con antígeno de Brucella melitensis (Poly B), por carecer de antígeno específico de Brucella ovis, dando negativos a todos los sementales muestreados en ambas pruebas, esto confirma que debe trabajarse con el antígeno específico para reportar resultados significativos de la Epididimitis ovina causada por Brucella ovis, (Alton 3).

La significancia de algunas pruebas serológicas para la Brucella ovis en una infección natural es difícil de evaluar por que no siempre se puede determinar si un animal esta infectado, ya que se presentan infecciones ---- transitorias y la eliminación de la bacteria puede ser in-
termitente. Los signos clinicos pueden obtener resulta-
dos contradictorios del diagnóstico serológico y ser el -
aislamiento de la bacteria el confirmativo, aunque en ani-
males inoculados experimentalmente no siempre se ha logra-
do aislarla a partir de semen de todos los sementales ---
(Cox 15), por otro lado no siempre puede determinarse que
no hay infección cuando los resultados del cultivo a par-
tir de semen sean negativos, debido a que la excreción de
la bacteria es intermitente. (Alton 3, Cox 15).

De los sementales a los que se les realizó muestreo-
de semen (Cuadro 1), para análisis bacteriológico, en nin-
guno, se logró aislar Brucella ovis, sin embargo, el ais-
lamiento de Actinobacillus seminis es de suma importan-
cia, ya que hasta el momento no se había reportado en ---
nuestro país, tomando especial cuidado con esto ya que el
aislamiento también fué de un animal importado, así como-
otros organismos: Pseudomona neuruginosa y Corynebacte-
rium ovis, que estan reportados como causantes de epididí-
mitis en carneros (Bulgin 12, DE 19), esto pudo deberse -
a que existiera una infección mixta, por lo que el aisla-
miento de la Brucella ovis es más difícil. Recordando --
que estos sementales resultaron positivos a la PFC, se --
puede inferir que haya sido por: 1).- Haber reacción cru-
zada con algunos microorganismos que provocan el cuadro -
clinico, como en el caso del aislamiento de Actinobaci-
llus seminis (Rahaley 43); 2).- Porque tuviesen anti-
cuerpos y en ese momento no estuvieran en proceso de ex-
creción de Brucella ovis (Alton 3); 3).- Ser animales --

con antecedentes de vacunación contra Brucella ovis.

Es muy común que los sementales serológicamente positivos sean excretores cuando provienen de rebaños que han permanecido infectados por largos períodos de tiempo (Burgess y Mc Donald 13), aunque DeVett 19 comenta que existen problemas para aislar el microorganismo de semen de consistencia acuosa en casos avanzados de epididimitis, tal es el caso del carnero No. 101 (Cuadro 1) que se obtuvo un semen de consistencia acuosa ya que tenía aproximadamente año y medio con la lesión clínica, y que al hacer el cultivo a partir de tejido de la cola del epidídimo se logró -- aislar la Brucella ovis.

De los 36 animales detectados clínicamente, únicamente 8 sementales estuvieron positivos serológicamente a --- Brucella ovis en la PFC, esto concuerda con lo reportado -- por Alton 3, Bagley 6, Beeman 7, Blood 8, Bulgin 12, De -- Wett 19, De Long 18, Flores 23 y Jensen 29; que son diversos agentes etiológicos que producen epididimitis en los -- carneros.

Los animales que resultaron serológicamente positivos a la PFC, sin presentar lesiones clínicas, representaron -- el 7.4% (10 sementales) del total de los carneros muestrea-- dos, similar a lo reportado por Worthington 53, que explica que carneros con títulos positivos a la PFC y sin le--- sión clínica puede ser debidos a que el animal se encuen-- tra en estados iniciales de la enfermedad, o a la infec--- ción transitoria, la cual no involucra el aparato reproduc-- tor pudiendo ocurrir esto en una alta proporción de carne-- ros que además nunca excretan la bacteria en semen. Según Rahaley 43, existe la posibilidad de dar falsos positivos-- a la PFC debido a reacciones cruzadas con otros organismos.

como lo encontró experimentalmente en conejos con Actinobacillus seminis. Sin embargo, Searson 45, menciona que los anticuerpos de Actinobacillus seminis y de Escherichiacoli no tienen reacción cruzada con Brucella ovis. También se presentan falsos positivos a la PFC, cuando las muestras - están contaminadas o hemolizadas (reacción anticomplementaria) Ris 44 y Worthington 53, en este caso se descarta la posibilidad de que exista esta reacción, ya que las muestras hemolizadas se tomaron nuevamente y se congelaron inmediatamente a -20°C., además de que se trabajaron las --- muestras en 3 ocasiones hasta eliminar las reacciones anti complementarias. En otro aspecto Cox 15, menciona que los signos clínicos no siempre se desarrollan en todos los animales infectados.

Con respecto a los reactores positivos a la PFC (Cuadro 5), sin lesiones clínicas, es posible que se deban a - que estos sementales fueron importados de los EEUU. y estaban vacunados con Bacterina mixta contra epididimitis, pudiendo estos anticuerpos interferir con la prueba.

El semental No. 102 (Anexo 1), que tiene título positivo sin lesiones clínicas, se puede decir que estos títulos son debidos a la infección por Brucella ovis, ya que - en este rebaño se encontraba el semental No. 101 del que - se logró aislar la bacteria (Brucella ovis).

Se obtuvo un 10.4% (14 sementales) del total de sementales muestreados (Cuadro 5), sospechosos a Brucella ovis- en la PFC, estos presentaban lesiones clínicas, en la PFC- hay variación de muestra a muestra en los títulos de anticuerpos contra la bacteria como menciona O'Hara 40 y ---- Worthington 53. Estos títulos permanecen detectables de 2 a 7 semanas, si el animal se recupera de la enfermedad ---

(transitoria) los títulos de anticuerpos descienden hasta-cero por un período de 4 a 5 meses, si el animal permanece infectado los títulos pueden descender a niveles mínimos - por un período de 5 meses (Burgess 13,14). En el caso del rebaño 3 (Anexo 1), se tiene el antecedente de que los se-mentales son de importación y fueron vacunados, Afzal 1 - y Worthington 53, encontraron que los títulos vacunales -- pueden interferir con la PFC, por más de 2 años y en algu-nos de ellos les causa lesiones clínicas en aparato repro-ductor. En lo que se refiere a los reactores sospechosos- a la PFC con cuadro clínico en el rebaño No. 4, es indica-do por Alton 3, que hay reacción cruzada en la PFC de las-Brucellas con Pasteurella, y en este rebaño había la histo-ria de haber sido vacunado con bacterina de Pasteurella --
multocida.

Los reactores sospechosos a la PFC sin lesión clíni--ca, pueden deberse a que no siempre se desarrollan los sig-nos clínicos en todos los afectados como lo encontró Cox -15.

En los animales con títulos negativos a PFC (Cuadro -5) y que se encontraron con lesiones clínicas, puede haber la explicación en lo que Burgess y Mc Donald 13 indican -- que animales naturalmente infectados pueden presentar epi-didimitis y excretar Brucella ovis en su semen ó solamente demostrar respuesta serológica por un corto tiempo y des--pués revertir al estado serológico negativo.

En relación a la edad de los sementales, en este estu-dio puede verse que los animales mayores de cuatro años --son los más afectados tanto en el exámen clínico como en -el estudio serológico realizados por Brucella ovis, con---cuerda con lo indicado por Beeman 7, Blood 8, Bulgin 12, -De Wett 19, Jensen 29 y Mercy 36; que los carneros sexual-

mente maduros son los más comúnmente afectados, y la incidencia de la enfermedad se incrementa con la edad.

En esta investigación se puede observar que todas las razas estudiadas presentaron reactores positivos (Anexo 1), indicando como Blood S, Burgess 13 y 14, Jensen 29 y Libal 31, que todas las razas ovinas son afectadas por la Epididimitis causada por Brucella ovis.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En nuestro país, cada día cobra más importancia el fomento de la producción ovina, para ello se ha formulado -- gran cantidad de proyectos particulares u oficiales con objeto de incrementar el número de ovinos del rebaño Nacional, en algunos de estos programas, la idea primordial ha sido la de importar animales de "alto valor genético" para integrarlos al rebaño Nacional y así tener una mejora genética a corto plazo, sin embargo, se ha descuidado de manera alarmante el renglón de sanidad de los animales ingresados al País, esto repercute en que un gran número de enfermedades que no representaban un problema grave, ni económico, ni de salud pública, ahora lo sean. Tal es el caso de la Epididimitis causada por Brucella ovis, que ha pesar de que se desconocen muchos aspectos de la infección tanto en los ovinos como en el hombre, es incluida por muchos investigadores y clínicos en ésta área, como una de las principales causas de pérdidas económicas por deshecho de sementales y/o baja fertilidad en el rebaño, además del problema que representa de salud pública.

Por lo que la investigación en cuanto a la productividad de los rebaños Nacionales es necesaria, sobre todo para controlar la importación masiva de animales y por lo tanto la adquisición ó introducción de enfermedades, que en lugar de ayudar a incrementar la Producción Ovina del País le ocasionan nuevos problemas.

En base a los objetivos planteados al inicio de éste-trabajo, pudimos determinar que:

- 1).- La enfermedad se está difundiéndose rápidamente, -

debido a la constante práctica de cruzamientos con razas - puras importadas de países con alta incidencia de la enfermedad, esto se demostró al encontrar 72 sementales (53.33% del total de animales muestreados) de reactores positivos y sospechosos a la Prueba de Fijación de Complemento (PFC), - de los cuales 36 animales son importados. Recomendando -- que al realizar una nueva adquisición, se realicen exámen- clínico minucioso, Pruebas Serológicas y en hembras tam- -- bién un cultivo bacteriano de exudado vaginal. Además de- que aquellos animales en los rebaños que resultaran con tí- tulos sospechosos a la PFC realizarles un remuestreo a las 2 a 4 semanas después.

2).- Se carece de los conocimientos suficientes en -- cuanto a la epidemiología y desarrollo de la infección por lo que se dificulta el control y por ende la difusión del problema ha ido en aumento dentro del Rebaño Ovino Nacio-- nal.

3).- Encontramos que otro factor que influye en la -- transmisión y difusión de la enfermedad es el problema que existe en el diagnóstico, en los aspectos de dificultad en la recolección y envío de muestras, así como en la confiabilidad de los resultados y esto se ve reflejado en que: - por una parte algunos clínicos no les interesa tanto el -- diagnóstico definitivo de las enfermedades, sino únicamen- te el tratamiento curativo ó paleativo del problema presen- tado; para otros clínicos no siempre es factible recolec-- tar y enviar adecuadamente las muestras al laboratorio de- Diagnóstico, encontrándose aquí otra dificultad que son en sí estos Laboratorios, ya que tienen un horario burocráti- co de recepción de muestras y en la mayoría de los casos - es imposible ajustarse a este horario, que tienen un cos- to elevado las pruebas que son necesarias para dar como po

sitivo a los sementales, además de que en ocasiones es necesario remuestrear a los animales, para tener una certeza en el Diagnóstico.

4).- Otro aspecto muy importante que se comprobó fué que el inadecuado procesamiento de muestras, ó la utilización de Técnicas Serológicas y Bacteriológicas Estandar para el diagnóstico de otros serotipos de Brucellas por los Laboratorios, las cuales no proceden para el diagnóstico de Brucella ovis, (que a pesar de que al hacer la Historia Clínica y pedir las Pruebas específicas con antígeno de -- Brucella ovis, no se realizan esas pruebas en forma rutinaria en estos Laboratorios), ya que no le dan importancia a esta enfermedad. Además de que las Pruebas específicas y estandar para el diagnóstico de esta enfermedad como lo es la Prueba de Fijación de Complemento, se debe de tener mucha experiencia para poderla efectuar con precisión ya que son muchas las partes que la componen y cualquiera de ellas puede estar fallando.

5).- Como se comentó, en algunos países desarrollados esta prohibida la vacunación en los carneros, ya que además de que elevó la incidencia de animales con cuadro clínico, interfiere con las Pruebas Serológicas. Esto se pudo comprobar en este trabajo, ya que se encontraron sementales importados con antecedente de vacunación con cuadro clínico y al exámen bacteriológico negativo o aislamiento de otras bacterias. Por lo que se recomienda no vacunar contra Brucella ovis con bacterina de Brucella ovis muerta o viva ya que su eficacia no esta 100% comprobada y sí se tiene conocimiento de que ocasiona lesiones. Tampoco vacunar con cepa 19 de Brucella abortus ó Rev 1 de Brucella melitensis viva, debido a que estos microorganismos pueden -- ser eliminados en semen y aumentar el riesgo de zoonosis.

6).- En esta investigación, se logró determinar que - en el muestreo de semen de carneros con cuadro clínico es - muy difícil:

1°. Obtener dicha muestra pues implica el tener el - aparato adecuado, familiarizarse con su uso, existir luz - eléctrica en la explotación y además la disponibilidad del propietario.

2°. Que el estudio bacteriológico de esta muestra, no es determinante para el diagnóstico, ya que se contamina - fácilmente, el procesado no debe llevar arriba de 12 horas post-obtención, por lo que la posibilidad de tener falsos- negativos o equivocar el diagnóstico definitivo es muy ele- vada.

Además de que del estudio bacteriológico de semen se - logró el aislamiento de otros agentes etiológicos que como ya que se mencionó provocan el cuadro clínico de epididimi- tis en el carnero como son: Actinobacillus seminis, Pseudo- mona auruginosa y Corynebacterium ovis.

7).- Con respecto al estudio bacteriológico de tejido, también se logró aislar otro agente muy importante de la - Epididimitis Ovina y es el Actinobacillus seminis este fue obtenido de un animal importado. Y de otro semental del - rebaño Nacional se logró aislar e identificar la Brucella- ovis; de una u otra manera éste aislamiento sólo se logró- del animal ya orquiectomizado, lo que solamente ayuda para tomar medidas en el resto de los sementales de la explota- ción.

8).- En resumen el Diagnóstico Integral es necesario- para dar como positivo a Brucella ovis a un semental, ya - que:

A) Al Exámen Clínico muchas son las etiologías que -- ocasionan Epididimitis.

B) Pruebas Serológicas no son definitivas por existir la posibilidad de reacciones falsos negativos y falsos positivos.

C) Patología: las lesiones macroscópicas son similares como se observó entre el seminal del que se aisló --- *Actinobacillus* y del que se aisló Brucella ovis.

D) Por los problemas que se presentan al examen bacteriológico tanto de semen como de tejido, es necesario intentar otras pruebas como la de Tinción de semen o Inmunofluorescencia en semen, las que recomendamos estudiar, así como otras técnicas que no se han probado en México.

A N E X O S .

ANEXO 1. Relación de los sementales muestreados con resultados del Exámen Clínico y títulos de la Prueba - de Fijación de Complemento (PFC).

NO. MUES TRA.	IDENTI FICA- CION.	EDAD (años)	R A Z A	EXAMEN CLINICO (inspección y palpa- ción).	TITU- LOS - PFC.
REBAÑO 1.					
1	249	+ 4	ROMNEY	NORMAL	-
2	233	+ 4	ROMNEY	NORMAL	-
3	130	+ 4	ROMNEY	NORMAL	-
4	95	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	-
5	318*	+ 4	ROMNEY	CORDON ESPERMATICO DERECHO	1:40
6				COLA DE EPIDIDIMO IZQUIERDO*	
6	248	+ 4	ROMNEY	NORMAL	1:20
7	236	+ 4	ROMNEY	NORMAL	-
8	234	+ 4	ROMNEY	NORMAL	1:20
9	C/SH	+ 4	RAMBOULLIET	TESTICULO DERECHO Y IZQUIERDO	-
10	310	+ 4	RAMBOULLIET	NORMAL	-
REBAÑO 2.					
11	749	1	RAMBOULLIET	NORMAL	-
12	130	1	RAMBOULLIET	NORMAL	-
13	778	1	RAMBOULLIET	NORMAL	-
14	766	1	RAMBOULLIET	NORMAL	-
15	741	1	RAMBOULLIET	NORMAL	-
16	799	2	RAMBOULLIET	NORMAL	-
17	506	2	RAMBOULLIET	NORMAL	-
18	810	2	F ¹	NORMAL	1:20
19	798	2	F ¹	NORMAL	1:20
20	772	1	F ¹	NORMAL	-
21	776	1	F ¹	NORMAL	-
22	771	1	F ¹	NORMAL	-
23	761	2	F ¹	NORMAL	-
24	768	2	F ¹	NORMAL	-
25	398	2	F ¹	NORMAL	1:20
26	812	1	F ¹	NORMAL	1:20
27	739	1	F ¹	NORMAL	1:20
28	840	1	F ¹	NORMAL	-
29	51	+ 4	MERINO	EPIDIDIMO Y CORDON ESP. DERECHO	1:20

NO. MUESTRAS TRA.	IDENTIFICACION.	EDAD (años)	R A Z A	EXAMEN CLINICO (inspección y palpación).	TITULOS PFC.
30	29	+ 4	MERINO	CORDON ESPERMATICO	1:20
31	07	+ 4	MERINO	NORMAL	1:20
32	27	+ 4	MERINO	COLA EPIDIDIMO DERECHO	1:20
33	SBAP13159	+4	MERINO	CORDON ESPERMATICO	1:20
34	39	+ 4	MERINO	TESTICULOS FALTA TONO	1:20
35	20	+ 4	MERINO	NORMAL	-

REBAÑO 3.

36	G179116	+ 4	SUFFOLK	COLA EPIDIDIMO Y CORDON ESPERMATICO IZQUIERDO °	1:40
37	G176356	+ 4	SUFFOLK	TESTICULO DERECHO PEQUEÑO Y DURO.	1:20
38	G178546	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	1:20
39	G179127	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	1:20
40	G176521	+ 4	SUFFOLK	CABEZA Y COLA EPIDIDIMO IZQ. DUROS. °	1:80
41	G176364	+ 4	SUFFOLK	ASIMETRIA TESTICULAR	1:80
42	G176357	+ 4	SUFFOLK	COLA EPIDIDIMO DERECHO PEQUEÑA	1:20
43	G179125	+ 4	SUFFOLK	COLA AMBOS EPIDIDIMOS ENDURECIDAS	1:20
44	S/N	+ 4	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO ENDURECIDO °	1:40
45	G179117	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	1:40
46	S/N	1	SUFFOLK	NORMAL	1:20

REBAÑO 4.

47	453	2	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO	1:20
48	258	3	SUFFOLK	NORMAL	1:20
49	180568	3	SUFFOLK	NORMAL	1:20
50	415	2	SUFFOLK	NORMAL	1:20
51	334	2	SUFFOLK	NORMAL	-
52	215	2	SUFFOLK	NORMAL	-
53	320	3	SUFFOLK	NORMAL	1:20
54	838	2	SUFFOLK	NORMAL	-
55	1246	1	SUFFOLK	NORMAL	-
56	1154	2	SUFFOLK	NORMAL	-
57	618	2	SUFFOLK	EPIDIDIMO IZQUIERDO LIGERAMENTE.	-
58	934	2	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO	-
59	445	2	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO	1:20
60	938	3	SUFFOLK	NORMAL	-
61	13	2	SUFFOLK	NORMAL	-
62	470	3	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO LIGERAMENTE.	-

NO. MUES- TRA.	IDENTI- FICA- CION.	EDAD (años)	R A Z A	EXAMEN CLINICO (inspección y palpa- ción).	TITU- LOS PFC.
63	572	2	SUFFOLK	CUERPO DEL EPIDIDIMO MARCADO.	-
64	T 13	+ 4	LINCOLN	NORMAL	1:20
65	T 17	4	LINCOLN	NORMAL	-
66	T 23	2	LINCOLN	NORMAL	-
67	T 16	+ 4	LINCOLN	EPIDIDIMOS DUROS	1:40
68	T 08	2	LINCOLN	NORMAL	-
69	T79738	+ 4	LINCOLN	NORMAL	-
70	T 06	2	LINCOLN	NORMAL	-
71	0422	+ 4	LINCOLN	EPIDIDIMO IZQUIERDO	-
72	T 05	2	LINCOLN	NORMAL	-
73	T 313	4	LINCOLN	NORMAL	-
74	02	4	LINCOLN	NORMAL	-
75	8412	2	LINCOLN	NORMAL	1:20
76	T 22	4	LINCOLN	NORMAL	-
77	T 16	4	LINCOLN	NORMAL	1:20
78	T 19	4	LINCOLN	EPIDIDIMO DERECHO	1:20
79	T 11	+ 4	LINCOLN	EPIDIDIMO DERECHO	1:20
80	T 07	2	LINCOLN	NORMAL	1:20
81	T 03	2	LINCOLN	EPIDIDIMO IZQUIERDO	-
82	T 01	2	LINCOLN	NORMAL	-
83	T 10	2	LINCOLN	NORMAL	-
84	T 04	4	LINCOLN	EPIDIDIMO IZQUIERDO	-

REBAÑO 5.

85	259	2	RAMBOULLIET	NORMAL	1:20
86	86	3	RAMBOULLIET	NORMAL	1:20
87	228	3	RAMBOULLIET	NORMAL	1:20
88	87	2	RAMBOULLIET	EPIDIDIMO IZQUIERDO*	1:80
89	133	3	RAMBOULLIET	EPIDIDIMOS DUROS	1:20
90	88	2	RAMBOULLIET	EPIDIDIMOS LIGERAMENTE	1:20
91	90	3	RAMBOULLIET	EPIDIDIMO IZQUIERDO LIGERAMENTE	1:20
92	89	3	RAMBOULLIET	NORMAL	1:20
93	777	3	RAMBOULLIET	NORMAL	-
94	1978	2	RAMBOULLIET	NORMAL	-
95	770	3	RAMBOULLIET	NORMAL	1:20

REBAÑO 6.

96	623	+ 4	SUFFOLK	EPIDIDIMO IZQUIERDO DURO.	1:20
97	325	1	SUFFOLK	NORMAL	1:20
98	30	1	SUFFOLK	NORMAL	1:20

NO. MUES TRA.	IDENTI FICA CION.	EDAD (años)	R A Z A	EXAMEN CLINICO (inspección y palpa ción).	TITU LOS PFC.
REBAÑO 7.					
99	2	3	SUFFOLK	NORMAL	1:20
REBAÑO 8.					
100	RBP	4	RAMBOULLIET	NORMAL	-
101	RMP	4	RAMBOULLIET	EPIDIDIMO Y TESTICULO IZQUIERDOS DUROS Y AU MENTO DE TAMAÑO *	1:40
102	SP1	4	SUFFOLK	NORMAL	1:40
REBAÑO 9.					
103	799	4	RAMBOULLIET	NORMAL	-
104	800	+ 4	RAMBOULLIET	EPIDIDIMO IZQUIERDO POCO ENDURECIDO.	1:20
105	6	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	-
106	798	1	SUFFOLK	NORMAL	1:20
107	V	4	SUFFOLK	NORMAL	1:20
108	V2	2	SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO *	1:40
REBAÑO 10.					
109	1	4	SUFFOLK	NORMAL	-
110	T103	2	SUFFOLK	EPIDIDIMOS DUROS	-
111	3	2	CRIOLLO	NORMAL	-
REBAÑO 11.					
112	238	2	SUFFOLK	NORMAL	-
113	5	1	ENCASTADO SUFFOLK	EPIDIDIMO DERECHO LI- GERAMENTE.	-
REBAÑO 12.					
114	795	1	CRIOLLO	EPIDIDIMO IZQUIERDO	-
REBAÑO 13.					
115	7	1	CRIOLLO	EPIDIDIMO IZQUIERDO LIGERAMENTE.	-
116	8	1	ENCASTADO SUFFOLK	NORMAL	1:20
REBAÑO 14.					
117	9	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	1:20

NO. MUES TRA.	IDENTI FICA CION.	EDAD (años)	R A Z A	EXAMEN CLINICO (inspección y palpa ción).	TITU— LOS — PFC.
REBAÑO 15.					
118	10	3	CRIOLLO	NORMAL.	1:40
REBAÑO 16.					
119	361	4	CRIOLLO	NORMAL	-
REBAÑO 17.					
120	17	+ 4	CRIOLLO	NORMAL.	-
121	74	2	CRIOLLO	NORMAL	1:40
REBAÑO 18.					
122	10	+ 4	SUFFOLK	NORMAL	1:20
REBAÑO 19.					
123	1/1	2	PELIBUEY	EPIDIDIMO DERECHO LI GERAMENTE	-
124	2/3	2	PELIBUEY	NORMAL	-
125	3/3	1	PELIBUEY	NORMAL.	-
126	4/3	1	PELIBUEY	NORMAL.	-
127	5/4	3	PELIBUEY	NORMAL	1:80
128	6/4	3	PELIBUEY	NORMAL	1:40
129	7/4	2	PELIBUEY	NORMAL	1:20
130	8/5	+ 4	PELIBUEY	NORMAL	1:20
131	9/5	3	PELIBUEY	EPIDIDIMO DERECHO Y DURO	1:20
132	10/6	3	PELIBUEY	NORMAL	1:40
133	11/6	4	PELIBUEY	NORMAL	1:20
134	12/6	+ 4	PELIBUEY	NORMAL	1:40
135	13/6	2	PELIBUEY	NORMAL	1:40

* Semetales a los que la asimetría epididimal era de 3 ó más que su -
homólogo.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Afzal, M.; Fenderdy, R.P.; Ellis, R.P.; Kimberling, C.V. and Morris, C.J.; Protection of rams against -- Epididymitis by a Brucella ovis - vitamin E adjuvant vaccine; Veterinary Immunology and Immunopathology, - 1984 (7) 293-304.
- 2.- Ajai, C.O.; Coor, J.E., Dennis, S.M.; Diagnosing ovine epididymitis by immunofluorescence; Veterinary -- Record, 1980 (107) 421-424.
- 3.- Alton, G.G.; Jones, L.M.; Pietz, D.E.; Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis; Segunda edición, -- FAO-OMS, Ginebra, 1976.
- 4.- Animal Health Division; The Complement Fixation Test for the diagnostic of Brucella ovis infection in --- rams; New Zealand Veterinary Journal, 1983 (31) 157-160.
- 5.- Bagley, C.V.; Paskett, M.E.; Matthews, N.J.; Sten---quist, N.J.; Prevalence and causes of ram epididymitis in Utah; Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA), (1985) 186 (8) 798-801.
- 6.- Bagley, C.B.; Burell, W.C.; Esplin, G.M.; Walters, -- J.L.; Effect of Epididymitis of semen quality of --- rams; (JAVMA), (1984) 185 (8) 876-877.
- 7.- Beeman, K.B.; Hummels, S.; Rahaley, R.; Epididymitis in ram (in Kansas); Veterinary Medicine and Small -- Animal Clinician, (1982) 77 (11) 1647-1650.
- 8.- Blood, D.C.; Henderson; Medicina Veterinaria; Quinta edición; Editorial Interamericana; 1982, México, --- D.F., pags. 533-536.
- 9.- Brinton, L.; Craddock, F.; Hancock, H.A.; Jensen, -- R.; Thomas, G.M.; Truebloock, M.S.; Weibel, J.; Ram-Epididymitis; A Clinical Report; Theriogenology, --- (1982) 17 (3) 343-347.
- 10.- Brooks, H.V.; Intraperitoneal vaccination of rams -- against Brucella epididymitis; New Zealand Veterinary Journal, 1979 april, pag. 105.
- 11.- Bruére, A.N., West, D.M.; CFT inaccurate for epididymitis; New Zealand Veterinary Journal, 1978 (26) --- pag. 15.

- 12.- Bulgin, M.S.; Anderson, B.C.; Association of sexual-experience with isolation of various bacteria in cases of ovine epididymitis; (JAVMA), (1983) 182 (4) - 372-374.
- 13.- Burgess, G.W.; Norris, M.J.; Evaluation of the Cold-Complement Fixation Test for the diagnostic of ovine brucellosis; Australian Veterinary Journal, (1982) - 59 (1) 23-25.
- 14.- Burgess, G.W.; Mc Donald, J.W.; Norris, M.J.; Epidemiological studies on ovine brucellosis in selected ram flocks; Australian Veterinary Journal (1982), 59 (2) 45-47.
- 15.- Cox, J.C.; Gorriest, C.J.R.; Nairn R.C. and Word, H.-A.; A comparison of methods for the serological diagnosis of Brucella ovis infection; British Veterinary Journal, (1977) (133) 442-445.
- 16.- Chin, C.J.; Comparison of different antigenic preparations for detection of ovine serum antibodies ---- against Brucella ovis by ELISA; Australian Veterinary Journal, 1983 (60) 261-264.
- 17.- Chin, C.J.; Plant, J.W.; Claxton, P.D.; Evaluation - of surface components of Brucella ovis as antigens - for the detection of precipitin antibody in serums - from artificially exposed rams; Australian Veterinary Journal, 1983 (60) 264-267.
- 18.- De Long, W.J.; Waldhalm, D.G.; Hall, R.F.; Bacterial isolated associated with epididymitis in rams from - Idaho and Eastern Oregon flocks; American Journal -- Veterinary Research, (1979) 40 (1) 101-102.
- 19.- De Wett, J.A.L. and Erasmus, J.A.; Epididymitis of - ram in the central and southern districts of the --- Orange Free State; Journal of the South African Veterinary Association, 1984 (december) 55 (4) 173-179.
- 20.- Dolley, Ph.; Géral, M.F.; Pellerin, J.L.; Milon, A.; et Lautié, R.; L' epididymite contagieuse du bélier- (Infection A Brucella ovis); Revuê Méd. Vet. (1982)- 133 (3) 187-195.
- 21.- Dolley, Ph.; Géral, M.F.; Pellerin, J.L.; Milon, A.; De Bastard, F.; et Lautié, R.; L' epididymite contagieuse du bélier (Infection A Brucella ovis); Revuê-Med. Vet. (1982) 133 (4) 267-271.

- 22.- Fensterbank, R.; Pardon, P. and Morly, J.; Efficacy of Brucella melitensis Rev 1 vaccine against Brucella ovis infection in rams; Annales de Recherches Vétérinaires, (1982) 13 (2) 185-190.
- 23.- Flores, R.; Suárez, G.F.; y Martínez, Y.E.; Presencia de anticuerpos de Brucella ovis en borregos Tascasco. Resúmenes de la XI Reunión Anual, INIP, SARH, México, D.F.; 1974.
- 24.- Hafez, E.S.E.; Reproduction in farm animals; Cuarta edición; Lea & Febiger; Philadelphia, 1980. pag. --- 482.
- 25.- Hesley, M.C.; Kleins Chuster, S.J.; Gharpure, H.M.; Johnston, A.V.; Production and preliminary characterization of monoclonal antibodies to Actinobacillus spp isolated from epididymitis lesions in a ram; --- American Journal Veterinary Research, (1985) junio, 46 (6) 1297-1302.
- 26.- Hicks, J.D.; Burr, G.R.; Marshall, D.R.; Vidler, B.M.; CFT inaccurate for epididymitis; New Zealand Veterinary Journal, 1974, December, (34) pag. 34.
- 27.- Hopkinson, W.I.; and Lloyd, J.; Brucella ovis in merino ram in western Australia; Australian Veterinary Journal, 1979, april, (55) 200-201.
- 28.- Hughes, P.; Further practitioner comment on Brucella ovis; New Zealand Veterinary Journal, 1982, 30 (12)-201-203.
- 29.- Jensen, R.; Diseases of sheep; Second edition; LEA & FEBIGER; Philadelphia, 1982 pag. 7-12.
- 30.- Kulshreshtha, R.C.; and Kalra, D.S.; A study on sheep brucellosis with particular reference to infection -- epididymitis outbreak in rams; Indian Veterinary Journal, 1978, mayo, (55) 357-362.
- 31.- Libal, M.C.; and Kirkbride, C.A.; Brucella ovis - induced abortion in ewes; JAVMA; 1983, september, 183- (5) 553-554.
- 32.- Mason, R.W.; and Corbould, A.; Echerichia coli epididymitis in a Suffolk ram; Australian Veterinary Journal; 1982 (58) 172.
- 33.- Mc. Diarmid, J.J.; Observations of Brucella ovis CFT results; New Zealand Veterinary Journal, 1978 (26) - 286-287.

- 34.- Mc. Goman, B.; Epididymitis in rams: Effects of vaccination and culling on the clinical incidence of the disease; Cornell Veterinary, 1979 (69) 67-72.
- 35.- Mc. Goman, B.; and Harrold, D.R.; Epididymitis in rams: Studies on vaccine efficacy; Cornell Veterinary, 1979 (69) 73-76.
- 36.- Mercy, A.R.; Robertson, G.W.; Goulder, R.K.; Mc. Kenzie, D.P.; The prevalence of ovine brucellosis in cull Merine rams in Western Australian Veterinary Journal, 1985, 62 (4) 137-138.
- 37.- Muhammed, S.I.; A comparison of counter immunoelectrophoresis with the rose bengal and the serum tube agglutination test in the diagnosis of brucellosis in sheep; Elsevier Scientific Publishing Company (1980).
- 38.- Nicoletti, P.; The diagnosis of brucellosis, some problems and new developments; Memorias del Foro Nacional sobre Brucellosis INIP-ENEP Cuautitlán, diciembre 1978, pag. 67-69.
- 39.- Nülo, L.; Diagnosis of ovine brucellosis; Canadian Veterinary Journal, 1985 (25) 118-119.
- 40.- O'Hara, P.J.; Anderson, C.D.; Weddell, W.; CFT inaccurate for epididymitis; New Zealand Veterinary Journal, 1978 (26) 115-116.
- 41.- Pérez, E.; Flores, R.; De la Higuera, J.A.; Frigo, F.J.; Diagnóstico y descripción de un brote de epididimitis ovina en México, originado por Brucella ovis Veterinaria México, 1979, 10, 221-226.
- 42.- Quinlivan, T.D.; Wallace, G.V.; Intraperitoneal vaccination of rams; New Zealand Veterinary Journal, - 1979, marzo, pag. 105.
- 43.- Rahaley, R.S.; and Dennis, S.M.; Histopatology of experimental brucellosis in rams following vaccination with Brucella ovis; Australian Veterinary Journal, - 1984, 61 (11) 353-356.
- 44.- Ris, D.R.; Hamel, K.L.; and Long, D.L.; Comparison of an enzyme linked immunospecific assay ELISA with the Cold Complement Fixation Test for the serological diagnosis of Brucella ovis infection; New Zealand Veterinary Journal, (1984) 32 (1-2) 18-20.
- 45.- Searson, J.; Sensitivity and Specificity of two microtitre Complement Fixation Test for the diagnosis-

- of Brucella ovis infection in rams; Australian Veterinary Journal, 1982, January (58) 5-7.
- 46.- Spencer, T.L.; and Burgess, G.W.; Enzyme-Linked Immunosorbent assay for Brucella ovis specific antibody in ram sera; Research in Veterinary Science 1984, 36, (2) 194-198.
- 47.- Van Drimmelen, G.C.; The distribution, incidence and control of Brucellosis in the Republic of South Africa; Bulletin de l'Office Internationale des Epizootics, 1974 (82) 97-105.
- 48.- Flores, R.; Características de las Brucellas; Memorias del Foro Nacional sobre Brucelosis INIP-SARH y-ENEP. UNAM, diciembre, 1978; 1-9.
- 49.- Webb, R.F.; Zuinn, C.A.; Cockram, F.A. and Husband, A.J.; Evaluation of procedures for the diagnosis of Brucella ovis infection in rams; Australian Veterinary Journal; 1980, April, (56) 172-175.
- 50.- West, D.M.; Johnstone, A.C.; Bruère, A.N.; Chapman, A.M.; Epididymitis in rams following vaccination --- against Brucella ovis infection; New Zealand Veterinary Journal; 1978, (26) 133-134.
- 51.- West, D.M.; and Bruère, A.N.; Accreditation for ---- freedom from ovine brucellosis; New Zealand Veterinary Journal; 1979 (27) 253-265.
- 52.- West, D.M.; and Bruère, A.N.; The Brucella ovis Complement Fixation Test; New Zealand Veterinary Journal; 1983 (31) 124-126.
- 53.- Worthington, R.W.; Stevenson, B.J.; Lisle, G.W.; Serology and semen culture for the diagnosis of Brucella ovis infection in chronically infected rams; --- New Zealand Veterinary Journal, (1985) 33 (6) 84-86.
- 54.- Worthington, R.W.; Weddell, W. and Penrose, M.E.; --- the diagnosis of Brucella ovis infection in rams; --- New Zealand Veterinary Journal, 1984 (32) 58-60.