

48  
2ej-



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**



**AGENTES BACTERIANOS INVOLUCRADOS  
EN LA EPIDIDIMITIS OVINA**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**  
**P R E S E N T A**  
**OLIVA TREJO GONZALEZ**

**DIRECTOR(A) DE TESIS**  
**M. C. CLARA INES ALVAREZ M.**



## **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

### I.- INTRODUCCION

1.1	Generalidades. Importancia de la ovino-cultura, haciendo referencia al problema de la reproducción.	1
1.2	Géneros bacterianos involucrados en los problemas reproductivos de los ovinos.	3
1.2.1.	<u>Actinohacillus seminis</u>	4
1.	Historia	4
2.	Generalidades	5
3.	Características Bioquímicas	5
4.	Patogenía.	5-6
1.2.2.	<u>Histophilus ovis</u>	7
1.	Historia.	7
2.	Generalidades	7
3.	Características Bioquímicas	8
4.	Patogenía	8-9
1.2.3.	<u>Bruceella ovis</u>	9
1.	Historia	9-10
2.	Generalidades	11
3.	Características Bioquímicas	11
4.	Patogenía.	11-12
1.2.4.	<u>Pasteurella haemolytica</u>	13
1.	Historia	13
2.	Generalidades	13
3.	Características Bioquímicas	14
4.	Patogenía	14
5.	Enzimas	14
6.	Toxinas	15

1.2.5. <u>Corynebacterium ovis</u>	16
1. Historia	16
2. Generalidades	17
3. Características Bioquímicas	18
4. Patogenía.	18
1.2.6. <u>Streptococcus spp.</u>	19
1. Historia	19
2. Generalidades	19
3. Características Bioquímicas	19
4. Enzimas	20
5. Toxinas.	20-21
1.2.7. <u>Staphylococcus spp.</u>	22
1. Historia	22
2. Generalidades	22
3. Características Bioquímicas	23
4. Enzimas	23
5. Toxinas.	24
II.- OBJETIVOS	25
III.- MATERIALES Y METODOS	26
3.1. Origen de las muestras	26
3.2. Aislamiento colonial	26
3.3. Identificación	27
IV.- RESULTADOS	28
V.- DISCUSION	66
VI.- CONCLUSIONES	70
VII.- BIBLIOGRAFIA.	72

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN LA UNIDAD I  
DE INVESTIGACION Y POSGRADO DE LA FA--  
CULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES " CUAUTI  
TLAN".

## I.- INTRODUCCION

### 1.1. Generalidades.

Los ovinos pertenecen al género Ovis, y los caprinos y sus parientes salvajes al género Capra. Estos dos géneros de la familia de los bóvidos, Ovis y Capra, están tan estrechamente emparentados que un naturalista nunca habla a la ligera cuando dice que hay que "separar las ovejas de las cabras". Sin embargo, los caprinos pueden distinguirse de los ovinos por la presencia de barba, la ausencia de glándulas interdigitales (que los ovinos poseen), el fuerte olor de los machos, y las diferencias en los cuernos y el esqueleto. (Abraham Jalil J.G., Ing. Santos I. Arbiza - Aguirre, 1983).

La especie ovina ocupa el último lugar por su número de importancia económica dentro de todos los animales domésticos explotados en México.

El estado actual de la producción ovina en México, está asignada por varios hechos paradójales y de muy completa explicación. La paradoja más significativa se basa en el hecho de que en un país como México, de grandes extensiones pastorales con más de la mitad del territorio árido y semiárido, con muy baja productividad tanto agrícola como ganadero de los mismos con un "habitat" totalmente favorable para la cría ovina, y por otra parte con una población totalmente insatisfecha de la oferta de los productos ovinos, tal es así que se debe importar con fuerte fuga de divisas y sin embargo, esta producción está en una etapa ya sea estática y en otros períodos francamente decreciente desde hace más de treinta años, situación que ha propiciado la importación de grandes volúmenes de lana y carne para abastecer la demanda interna (Abraham Jalil J.- G., Ing. Santos I. Arbiza Aguirre, 1983).

La epididimitis en el carnero es un problema económico importante para los productores (Bagley C.V., Burrell W. C., Esplin G.M., and Walters J.L., 1984).

La epididimitis fue reportada como una causa importante de infertilidad en carneros en el Oeste de E.U., también como la más importante de las áreas productoras de carneros del mundo (Bagley C.V., Paskett M.E., Mattheus N. J., Stenquist, N.J., 1985).

La epididimitis ovina es una enfermedad de curso agudo o crónico que afecta a los carneros caracterizándose por baja calidad del semen, presencia de granulomas espermáticos y fibrosis progresiva del epididimo. Es producida por *Brucella ovis*, quien se aloja comúnmente en el aparato genital. (Pérez Edmundo., Flores C. Ricardo et al, 1979).

## 1.2) GENEROS BACTERIANOS INVOLUCRADOS EN LOS PROBLEMAS REPRODUCTIVOS DE LOS OVINOS.

La amplia variedad de bacterias aisladas de carneros afectados con epididimitis, indican que la enfermedad tiene múltiples causas.

Los dos microorganismos más comunmente asociados con epididimitis en carneros son Brucella ovis y Actinobacillus seminis. Sin embargo, se han encontrado algunos carneros con lesiones clínicamente indistinguibles de epididimitis de los que se han aislado: Corynebacterium pyogenes, Corynebacterium pseudotuberculosis, Histophilus ovis, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Pasteurella haemolytica, Pasteurella pseudotuberculosis, Pasteurella multocida, Bacteroides spp. (De Long W.J., Waldhalm D.G., Ha 11 R.T., 1979; Jensen B.C., 1983).

Desde 1953, Brucella ovis fué considerada como el agente etiológico específico de epididimitis en ovinos.

La Brucella ovis es asociada solamente con enfermedades en ovinos y el principal método de transmisión es venérea.

En 1960, Actinobacillus seminis fué aislado de un microorganismo con epididimitis en Australia. Fué aislado de una lesión similar en EE.UU., en 1964 y en Sud-Africa en 1968. No obstante la prevalescencia de estos microorganismos en Australia y en los EE.UU. es baja.

En 1966, un microorganismo identificado como Histophilus ovis fué aislado de un ovino con epididimitis en Nueva Zelanda. Inicialmente los microorganismos de Histophilus ovis fueron aislados de un caso de mastitis ovina en el occidente de Australia en 1956. Aparentemente microorganismos idénticos fueron reportados en carneros con Sinovitis en Australia y Nueva Zelanda. (Bulgin Marie

S. and Anderson Bruce C., 1983).

Microorganismos tales como Corynebacterium pyogenes y Corynebacterium pseudotuberculosis son generalmente nocivos como la causa de condiciones y piogénicas en, -- cualquier parte del cuerpo del carnero, donde Pasteurella haemolytica y Pasteurella multocida puede ser la causa de neumonía y septicemia. (Jansen B.C., 1980).

### 1.2.1. ACTINOBACILLUS SEMINIS

#### 1. Historia

Baynes and Simmons (1960) describieron ciertas propiedades morfológicas, bioquímicas y de cultivo de la -- primer cepa de Actinobacillus seminis que fué aislada en Australia. En reportes subsecuentes estas características, con pocas diferencias, fueron confirmadas por Livingston & Hardy (1964) and Worthington & Bosman (1968).

El Actinobacillus seminis produce una enfermedad venérea crónica aguda, clínica o subclínica en ovinos, se caracteriza por producir epididimitis y/o orquítis. En áreas endémicas, esta enfermedad causa pérdidas económicas a los productores por periodos de inservilidad, tratamientos costosos y muertes en etapas agudas y por infertilidad, inspecciones necesarias y menos marcadas en estados crónicos. La incidencia puede ser menor con el uso persistente de programas de control.

Estas enfermedades ocurren en ovinos de todas las razas y todas las edades, siendo diagnosticada en Australia, Sud-Africa y los EE.UU., pero probablemente existen en la mayor parte de los países productores de ovinos.

De Long, Waldhalm & Hall (1979), Van Tonder (1979a, 1979b) concluyeron que lesiones semejantes a epididimitis en carneros en la república de Sud-Africa fueron princi-

palmente debido a la infección de Actinobacillus seminis, donde fué el microorganismo más frecuentemente aislado - por Jansen (1980) en casos similares fué aislada Pasteurella haemolytica.

## 2. Generalidades.

Son cocobacilos gram negativos, en forma de varilla, miden de 1 a 5 ó 6 micras de longitud, no esporuladas e inmóviles.

Forman colonias redondas convexas, con un borde entero y de color blanco grisáceas.

## 3. Características Bioquímicas

Existen cepas capaces de crecer en condiciones aeróbicas, pero crecimientos óptimos ocurren solamente en -- condiciones anaeróbicas con una atmósfera carboxilica a 37°C por 48 hrs. (Swanepoel L. Martha, 1984).

Para un mejor crecimiento se emplean cajas de agar sangre y condiciones atmosféricas con 10% de CO<sub>2</sub>.

La catalasa, oxidasa, urea, malonato, citrato, Ac.-sulfhídrico, OF, Arginina dehidrolasa son negativos.

La gelatina no es licuada, la prueba de nitratos es variable, no es hemolítica.

La fermentación de los carbohidratos es negativa.

La leche tornasol no presenta cambios.

En Agar Mac. Conkey no se observa crecimiento.

(Ván Tonder, E.M., 1979; Livingston Charles W., 1984)

## 4. Patogenia.

Siguiendo la transmisión de Actinobacillus seminis, este penetra en la membrana mucosa del huésped y por lin

fáticos aferentes entra en la región de nódulos linfáticos. Después causa hiperplasia limitada de células Retículo Endoteliales, algunos organismos pasan entre los nódulos, distribuyéndose a todos los órganos, localizándose finalmente en la "epidídimis", testículos, vesícula seminal, glándulas bulbo-uretrales y ámpulas. Después de 30\_ a 40 días de la exposición, los epidídimos y testículos\_ pueden dar una Epidídimo-Orquítis detectable aguda o crónica y en los 60 días posteriores hay infección de nódulos, bazo e hígado.

## 12.2. HISTOPHILUS OVIS

### 1. Historia

Dodd and Hartley (1955) aislaron un microorganismo pleomórfico, teñido bipolarmente, gram negativo, de lesiones de epididimítis supurativa afectando carneros jóvenes en Nueva Zelanda.

Roberts (1956) describió un organismo aislado de un caso de mastítis ovina, surigiendo que el m.o. podría ser nombrado Histophilus ovis. Un microorganismo similar fué aislado en Australia como causante de epididimítis, sinovítis, poliartrítis, mastítis y abortos en ovinos. (Claxton & Everett, 1966; Rahaley & White, 1977; Well - 1983b; Higgis y otros 1981).

Van Tonder (1979) demostró que Histophilus ovis incluido en éste grupo referido como Actinobacillus seminis, es también un patógeno importante de carneros en Sud-Africa.

En 1981 se presentó una descripción detallada de un aislamiento de una descarga vaginal de ovejas en Canadá. (Beauregard M. and Higgis R., 1983).

Stephens y col. (1983) no encontraron parentesco entre Histophilus ovis y Actinobacillus seminis pero consideraron que Histophilus ovis, Haemophilus sommus y Haemophilus agni fueron una sola especie y sugirieron el grupo Haemophilus-Histophilus (H-H) que fueron incluidas en un nuevo género. (Low J.C., Graham M.M., 1985).

### 2. Generalidades.

Son bacilos pleomórficos, gram negativos, no esporulados, miden de 0.75 x 1-4 micras, no fijan ácido cuando son teñidas por la técnica modificada de Ziehl-Neelsen.

Forman colonias pequeñas, inmóviles, no hemolíticas.

Requieren de condiciones anaeróbicas con 10% de  $\text{CO}_2$  a 37°C de incubación por 72 hrs.

### 3. Características Bioquímicas

Fermenta algunos carbohidratos sin producción de gas como son Glucosa, manitol, maltosa, dulcitol, manosa y sorbitol.

La catalasa y nitratos son positivas, no se observa reacción en la leche tornasol, no licua la gelatina, la urea es negativa, el indol en el medio de SIM y la prueba de  $\text{H}_2\text{S}$  con tiras de acetato de plomo son negativas.

No se observa crecimiento de agar Mac. Conkey.

(Claxton P.D. and Everett R.E., 1966; Rahaley R.S, and White W.E., 1983).

### 4. Patogenia

Jansen (1980b) concluyó que la bacteria entra al tracto genital de un carnero por el prepucio y luego migra por la vía de la uretra, en las glándulas accesorias y además a lo largo del conducto deferente de los epidídimos y testículos, sirviendo como una base para investigar el mecanismo inmune operado en la superficie del epitelio del tracto genital y en el fluido seminal. (Jansen B.C., Hayes Marianna and Knoetze P.C., 1983) .

Se ha visto que Histophilus ovis es fagocitado por los neutrófilos cuando los microorganismos entran en el lumen del tracto reproductivo del carnero. La función de los neutrófilos es la fagocitosis y por lo tanto impide la invasión de microorganismos. Esta función es realizada en el tracto genital por la migración de neutrófilos a través de la membrana del epitelio del lumen del trac-

to para alcanzar la migración bacteriana hasta el tracto contra la dirección del flujo del semen.

Esta migración de bacterias constituye uno de los elementos esenciales en la patogénesis de infecciones bacterianas del tracto reproductivo de los carneros (Jan sen 1980b).

La patogénesis de la infección en los carneros es desconocida pero Webb (1983b) sugirió que en cursos naturales de epididimitis es por la infección ascendente (Low J.C., 1985).

Aunque Histophilus ovis juega un papel importante en la economía de la reproducción de ovinos, solamente se comenta su descripción y las lesiones causadas por ésta, pero la prevención y control de la infección (Jansen B.C. Hayes, Marianna y Knoetze P.C., 1983).

### 1.2.3. BRUCELLA OVIS

#### 1. Historia

En Australia en 1942 Gunn, Sanders and Granger reconocieron la epididimitis de los carneros como una de las causas principales de infertilidad. Sugiriendo que esta enfermedad podría ser causada por una bacteria.

Stamp, Mac Ewn; Watt & Nisbet en 1950 describieron una enfermedad de las membranas fetales de los carneros, causada por un microorganismo que representaba características morfológicas y tintoriales semejantes al grupo Rickettsiae y Psittacosis-Linfogranuloma. Informaron que los carneros con fetos infectados podrían abortar, dar nacimientos prematuros y aún nacen carneros aparentemente normales. Los abortos ocurrían usualmente en avanzados estados de preñez.

En Nueva Zelanda en 1952, Mac Farlane, Salisbury, -

Osborne & Jebson informaron sobre una enfermedad similar que afectaba las membranas fetales de los carneros, describiendo como agente infectante a microrganismos semejantes a Rickettsias.

La etiología de la enfermedad fué determinada definitivamente en Australia por Simmons and Hall (1953) y - Nueva Zelanda por Buddle and Boyes, éstos investigadores lograron independientemente el aislamiento y cultivo de un microorganismo parecido a las Brucellas a partir del sémen y epidídimo de animales enfermos.

Buddle and Boyes, sugirieron que el microorganismo podría ser una mutante estable o una variable de Brucella melitensis adaptada al ovino.

En 1956 Buddle propuso la denominación de Brucella ovis para este organismo, nombre que si bien no ha sido aceptado universalmente se ha usado extensamente a partir de su introducción.

Muchos investigadores consideran que no debe incluirse en el género Brucella y Møller and Cameron sostuvieron que posee muchas características del género Hemophilus.

La infección también ha sido descrita en numerosos países como son Checoslovaquia, U.S.A., Sud-Africa, Rumanía, Argentina, Perú, Uruguay, Chile, Alemania, Francia, Brasil y México. (J.Ma. Blasco Martínez, 1983).

La epididimitis infecciosa de los carneros producida por Brucella ovis, denominada también por algunos investigadores Brucelosis ovina genital, es una enfermedad infecto-contagiosa, caracterizada por producir lesiones de tipo inflamatorio, localizadas preferentemente en la cola del epidídimo, provocando esterilidad en los testículos y aborto e infertilidad en las ovejas. (Rivas A. -

Luis, 1966 Hughes K.L. Claxton, 1968; Burgess, G.W., -- 1982; Martínez Blasco J.Ma., 1983; and Libal M.C., Kirbri de C.A., 1983).

## 2. Generalidades

Son bacilos pequeños o cocobacilos, pleomórficos - gram negativos, extremos redondeados, eje recto, de 0.7\_ a 1.2 micras de largo por 0.3 a 0.7 micras de ancho, se\_ presentan aisladas y en pares.

Son inmóviles, no esporuladas, no capsulares, se ti\_ ñen débilmente de color rosa pálido con el método de --- Ziehl Neelsen modificado por Stamp y colaboradores.

## 3. Características Bioquímicas.

El estudio de la fermentación de los carbohidratos\_ se realiza en medio de caldo triptosa con 10% de suero y un indicador de rojo de fenol agregándole 1% de azúcar. Se incuban a 37°C con 10% de CO<sub>2</sub>. (Casas Olascoaga Raúl\_ y Durán del Campo Anibal, 1968; Hughes K., 1968).

No se observa producción de ácido o gas con glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, salicin, arabinosa, xilosa,\_ manitol, dulcitol y sorbitol.

La leche tornasol no presenta cambios.

El Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer, Nitratos y Urea son negativos.

La catalasa es fuertemente positiva.

La gelatina es negativa. (Watt, D.A, 1970).

## 4. Patogenia

La patogénesis de la infección no es totalmente --- aclarada, aunque se piensa que fundamentalmente puede - ser dividida en dos tipos básicos, la que sería debida a septicemia o bacteremia tras la penetración de Brucella

ovis por cualquier vía, a excepción de la genital y la debida a la infección local ascendente tras el contagio genital. (Hardefelt K.W., 1977; Jansen B.C., 1980a; & Jansen B.C. 1980b).

La patogénesis de la infección ocurre después de la penetración del organismo por piel intacta, membranas mucosas, o lesiones ocurridas por una cortada. Lesiones localizadas pueden desarrollar un organismo que puede diseminar nódulos linfáticos periféricos.

La patogénesis de la infección de la Brucella ovis en carneros fué descrita como una progresión de cambios patológicos resultando en la formación de granulomas espermáticos. (Jubb and Kennedy, 1970).

#### 1.2.4. PASTEURELLA HAEMOLYTICA

##### 1. Historia.

Pasteurella haemolytica es el patógeno más comunmente asociado con neumonía de ovinos en Gran Bretaña (Gilmour 1980), y es también un patógeno respiratorio del ganado Allan 1978, Sutherland A.D., and Donachie W., 1968).

El aislamiento de Pasteurella haemolytica es dividida entre biotipos A y T en base a sus características -- morfológicas y bioquímicas (Smith, 1961).

Las Pasteurellas pueden ser separadas por resistencia a los antibióticos, fermentación bioquímica y morfología colonial de los dos biotipos A y T consistente de 15 serotipos (Fraser et al 1981).

Las bacterias también aparecen como un factor complicado con neumonía en becerros producida por inoculación endobronquial de Mycoplasmas. Por otra parte, la -- neumonía fue producida en ganado con cultivos de Pasteurella haemolytica única o en conjunción con otros agentes por ejemplo (virus, Mycoplasmas ó importancia de la temperatura). (Rimsay R.I., Coyle Dennis, J.E. Lauerman L.H. and Squire P.G., 1981).

La Pasterelosis ovina es una enfermedad de curso generalizado agudo, producida por Pasteurella haemolytica, bacteria gram negativa, asociada con factores predisponentes como son el virus de parainfluenza tipo 3 y condiciones de stress (Davies D.H., Dungworth D.L. Humphreys S., Johnson A.J., 1977; Dungal N., 1931, Gilmour N.J.L., 1980).

##### 2. Generalidades

Células ovoides ó en forma de varilla, miden de  $1.4 \pm 0.4$  por  $0.4 \pm 0.1$  micras, se encuentran individualmen-

te o menos frecuentemente en parejas o cadenas cortas, inmóviles, no forman endoesporas, gram negativas, tinción bipolar común especialmente en preparaciones hechas por tejidos de animales infectados, teñidos con Giemsa ó azul de metilo.

Aeróbicas y anaeróbicas facultativas.

(Mac Fadin J.F., 1979; Gilmour N.J.L., 1980)

### 3. Características Bioquímicas

Fermentación de la mayoría de carbohidratos sin producción de gas. Las pruebas de Oxidasa y catalasa son positivas, la motilidad es negativa. Las pruebas de Indol urea, nitratos, MR/VP son negativas.

La gelatina no es licuada, presentan crecimiento en agar Mac Conkey.

( Bergeys, 1979; Cowan and Steel, 1979)

### 4. Patogenia

Varios autores han efectuado su aislamiento a partir de casos de epididimitis, pero en unión a otros géneros (Corynebacterium pseudotuberculosis, Brucella ovis, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., etc.). Se desconoce la importancia de su hallazgo en éste órgano, pudiera haber una asociación con el agente patógeno primario.

### 5. Enzimas

La actividad enzimática en 16 glúcidos y particularmente en arabinosa, xilosa, lactosa y trehalosa fueron usados en el establecimiento de frecuentes biotipos permitiendo la clasificación de solamente 66 cepas como biotipo A y 5 como biotipo T.

Serológicamente, cepas aisladas del ganado perteneciendo a A:1, A:2 y A:9. Serotipos A:5, A:11 y A:12 fue-

ron aislados de ambas especies en pequeñas proporciones (Ungureanu c., Shimmel D., 1971).

## 6. Toxinas

La Pasteurella haemolytica fue dividida en serotipos por Biberstein, Gills and Knight (1960) y en los biotipos A (fermentadores de la arabinosa) y T (fermentadores de trehalosa) por Smith G.R., 1961. Biberstein and Gills (1962), quienes correlacionaron los dos sistemas de tipificación, encontraron que no todas las cepas de Pasteurella haemolytica eran catalasa positiva, sino que cepas catalasa negativas parecen estar confinadas al tipo T (Smith and Thal, 1965) consideraron que las diferencias entre los tipos A y T aunque no obstante, referidas a las reacciones de fermentación, podían justificar el reconocimiento de dos especies separadas (Cowan and --- Stell, 1979).

El biotipo A de Pasteurella haemolytica se asocia con la forma neumónica de la enfermedad, la cual ocurre en ovejas mayores de dos meses, mientras que en animales menores puede ocasionar septicemia.

Aquellos animales que no mueren permanecen afectados en forma crónica (Buxton A., Fraser G., 1977; Gilmour N. J.L., 1980).

En corderos jóvenes el cuadro es septicémico. El diagnóstico se hace por síntomas, necropsia, histopatología y aislamiento (Buxton A., Fraser G., 1977; Gilmour N.J.L., 1980).

El biotipo T, mas patogénico pero menos frecuente se asocia con septicemia en ovinos mayores de dos meses (Buxton A., Fraser G., 1977; Dyson D.A., Gilmour N.J.L., 1981).

Los organismos de Pasteurella haemolytica pueden ser separados por resistencia a los antibióticos, fermentación bioquímica y morfología colonial en dos biotipos A y T, consistente de 15 serotipos (Fraser et al., 1982). Uno de estos serotipos, el A1, es el asociado con la fiebre de embarque, una enfermedad respiratoria de considerable importancia económica (Adlam C., Knights J.M., Murgidge Anne Lindon J.C., Baker P.R.W., and Beesley J.E., 1984).

Se conoce poco acerca de las endotoxinas de los organismos de Pasteurella, en particular de Pasteurella haemolytica.

#### 1.2.5. CORYNEBACTERIUM OVIS

##### 1. Historia

Corynebacterium ovis es un microorganismo que causa una enfermedad que a través del tiempo ha recibido nombres tales como "Corynebacterium pseudotuberculosis" o "Linfadenitis caseosa", coincidiendo con esto, muchos autores han determinado que el nombre más adecuado es el de "Linfadenitis caseosa" (Benham, 1962; Smith and Jones, 1982; Belschner, 1965; Jubb and Kennedy, 1973; Runnells, 1975; Blood and Henderson, 1976).

La Linfadenitis caseosa (CLA) es una enfermedad del carnero causada por Corynebacterium pseudotuberculosis y se caracteriza por lesiones caseosas de los nódulos linfáticos, pulmones y ocasionalmente otras vísceras (Williamson P. and Nairn M.E., 1976).

Este m.o. fue aislado de un caso de epididimitis ovina (Simmons and col. and Jamienson & Soltys 1947) describieron una epidemia de Epididimo-Orquitis causada por Corynebacterium pseudotuberculosis.

Se reporta que la enfermedad se encuentra distribui

da en todas las áreas de crianza ovina en el Oeste de E.U. de Norte América, Canadá, Argentina, Uruguay, Chile Australia, Nueva Zelanda, Alemania, Francia, Bulgaria, Inglaterra, y muchos otros países en los cuales no se le da su real importancia. (Hadleigh, 1965; Manninger, 1968 and Niepe, 1972).

El estatus taxonómico exacto de Corynebacterium pyogenes es un enigma debido a la necesidad de suficiente información acerca de éste organismo.

Haciendo estudios sobre la morfología, fisiología, metabolismo, nutrición y características bioquímicas de Corynebacterium pyogenes para determinar su estatus taxonómico fue propuesto que Corynebacterium pyogenes se transfirió al género Actinomyces como Actinomyces pyogenes. (Reddy C. A., Cornell C.P., and Fraga A.M., 1982).

Corynebacterium pyogenes es aislado de una variedad de condiciones de enfermedades piogénicas en ganado, ovejas, cabras y cerdos y es el patógeno más frecuentemente aislado por varios procesos supurativos en ganado, también causa serias infecciones en personas. (Adirayana C., Cornell C.P., and Fraga A.M., 1980).

Aparte de su significancia como una causa de absesos, el Corynebacterium pyogenes es frecuentemente el responsable de la mastitis en el ganado (Seres, 1970), y puede ser incriminado como una causa de aborto (Hinton, 1974).

También es un patógeno importante en carneros y puede ser responsable de la mortalidad perinatal de carneros (Denis and Bamford, 1966), así como de la cojera aguda (Garder 1961).

## 2. Generalidades

El género Corynebacterium se caracteriza por ser --

gram positivo, bastones delgados ligeramente curvos, son pleomórficos y tienden a agruparse en "empalizadas" o "letras chinas", no forman endosporas, no tienen flagelos, presentan granulos metacromáticos, son aeróbicos y anaeróbicos facultativos. (Cameron C.M. et al. 1976, Adirayana C. 1980).

### 3. Características Bioquímicas.

Crecen en condiciones aeróbicas y anaeróbicas facultativas a 37°C por 24 hrs. en 10% de agar sangre de carnero.

No fermentan a la mayoría de los azúcares, excepto a la glucosa.

La catalasa es positiva, excepto para Corynebacterium pyogenes que es negativa.

Los nitratos y la urea son positivos.

La gelatina no es licuada

El Indol, MR/VP, son negativos.

### 4. Patogenia.

Los estudios sobre la patogenia de Corynebacterium pseudotuberculosis en carneros indican que la infección puede ocurrir después de la penetración del organismo -- por piel intacta, membranas mucosas o lesiones ocurridas por una membrana. Corynebacterium pseudotuberculosis puede inducir leucocitosis pulmonar resultando una trombosis capilar por activación del sistema complementario -- (C), generalización de  $C_{5a}$ , y aumentando adherencia granulocítica, como son sugeridos en otras infecciones de bacterias gram positivas. (Brugden, K.A., Cutlip R.C., - 1984).

### 1.2.6. STREPTOCOCCUS SPP.

#### 1. Historia.

El género Streptococcus es establecido en una amplia variedad de habitantes humanos, animales y plantas. Los Streptococcus son importantes en la industria lechera como patógenos del hombre y animales, y por su papel en la caries dental. El género fué propuesto por Rosenbach (1884) y su historia fué recientemente examinada -- por Wilson & Miles (1975) y Jones (1978). El artículo -- mas importante fué el de Andrewes & Horder (1906), Orla-Jensen (1919), Lancefield (1933) y Sherman (1937). En años recientes éstos fueron severamente analizados por su taxonomía numérica, principalmente en estudios comprensibles del género (Cobert & Blondeau, 1962; Carlsson, 1968; Colman, 1968; Seyfried, 1968; Jones et al., 1972; Feltham, 1979), y estos hallazgos fueron incorporados en grados variables en revisiones taxonómicas (Deibel & Seeley, 1974; Jones, 1978).

Los Streptococcus y Aerococcus pertenecen a la familia Streptococcacea. Los miembros de la familia Streptococcacea son bacterias cocoidales, gram positivas, citocromo negativo, las cuales usualmente crecen en cadenas de varias longitudes pero algunas veces forman tetradas (Edwin H. Lennette; Albert Balows, William J. Hausler; Joseph P. Truant, 1980).

#### 2. Generalidades

Colonias blancas, duras, pequeñas, de 0.5 a 1 mm. de diámetro y rodeadas de una zona clara de hemólisis, la cual revela cocos gram positivos, forman cadenas.

#### 3. Características Bioquímicas

Catalasa negativa, oxidasa negativa, no esporuladas,

inmóviles, hemolíticas.

Fermentan a los carbohidratos.

#### 4. Enzimas y Toxinas

Siguen descubriéndose nuevas toxinas y enzimas estreptocócicas, por ejemplo, con métodos inmunoelectroforéticos se ha encontrado en mezclas de gama globulinas humanas, 20 anticuerpos diferentes que reaccionan con 20 antígenos extracelulares diferentes que elaboran la cepa C-203 de Streptococcus del grupo A beta-hemolíticos (Robins R. M., Karshany A.B., and Ramsaroop Y.G., 1982).

Algunas toxinas estreptocócicas son: Estreptocinasa (Fibrinolisisina), es producida por muchas cepas de estreptococos beta-hemolítico provoca la transformación del plasminógeno del suero humano en plasmina, enzima proteolítica activa que digiere a la fibrina y a otras proteínas.

Estreptodornasa (DNAsa), es una proteína que despolimeriza al DNA.

Hialuronidasa, es una enzima que desdobla al ácido hialurónico, constituyente importante de la sustancia intercelular del tejido conjuntivo, así pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectantes.

Toxina eritrogénica, provoca el exantema que se presenta en la escarlatina. Solamente las cepas que elaboran esta toxina son capaces de causar esta enfermedad. - Algunos estreptococcus elaboran y liberan una enzima llamada Difosforidin -nucleotidasa que quizá está relacionada con la capacidad del microorganismo para matar a los leucocitos, Proteinasas y Amilasas son producidas por algunas cepas (Facklam R. Richard, et al., 1974; Robins R. M. Broune, Karshany A.B., and Ramsaroop Y.G., 1982).

El grupo de Streptococcus A produce dos hemolisinas distintas O y S pero no todas las cepas producen ambas; algunas cepas pueden producir una o ninguna, la presencia en el suero del anticuerpo contra Estreptolisina O es útil para detectar infecciones recientes con Streptococcus.

La Estreptolisina S es responsable de las zonas de hemólisis alrededor de las colonias que se forman sobre agar sangre (La estreptolisina O producirá también beta-hemólisis pero solo bajo condiciones anaeróbicas, ya que queda irreversiblemente inactivada por el oxígeno). La estreptolisina S no es un buen antígeno. (Musher D.M., et al., 1972).

### 1.2.7. STAPHYLOCOCCUS SPP.

#### 1. Historia.

Los Staphylococcus son miembros de la familia Micrococcaceae, que incluye los géneros Micrococcus, Staphylococcus y Planacoccus. Las especies de intereses clínicos del género Staphylococcus, el Staphylococcus aureus coagulasa positiva y algunas especies coagulasa negativa, - pueden identificarse por la morfología de sus colonias, - producción de coagulasa, hemólisis, producción de Desoxirribonucleasa, fermentación del manitol. En agar sangre el crecimiento es abundante entre 18 y 24 hrs., a 37°C. Las colonias bien aisladas de estafilococcus miden generalmente de 1 a 3 mm de diámetro a los 5 días de incubación. Son generalmente circulares, lisas y elevadas, ligeramente convexas. Las colonias que corresponden a esta descripción deben someterse a la coloración de Gram y -- las bacterias se observan como cocos gram positivos, formando agregados en forma de racimos de uvas o en cadenas. (Golkstein Jack and Roberts W. John; 1982; Pelezar J. Michael Jr., 1984; Pichando R. Efren A., 1982).

Los Staphylococcus contienen tanto polisacárido como protefnas antigénicas que permiten un agrupamiento de las cepas. Los ácidos teicoicos eslabonados al peptidoglucano de la pared celular, pueden ser anti-énicos. Las protefnas superficiales pueden interferir con la fagocitosis. La protefna A, un componente de la pared celular se une a la porción Fc de cualquier molécula de IgG. Esto hace que la porción Fab de cualquier molécula de anticuerpo esté cara afuera, de manera que se encuentra libre para combinarse con un antígeno específico.

#### 2. Generalidades

Son células esféricas, miden de 0.5 a 1.5 micras de

diámetro, ocurriendo individualmente en pares y en forma de racimos.

Inmóviles, gram positivos, no forman esporas.

### 3. Características Bioquímicas

Fermenta la mayoría de carbohidratos sin producción de gas como son glucosa, lactosa, maltosa, manitol, a excepción de sacarosa y xylosa que no fermentan.

Catalasa positiva, oxidasa negativa, OF(F), Voges-Proskauer positivo, nitratos positivos, urea positiva, gelatina positiva, coagulasa negativa excepto en el caso de *S. aureus* que es positiva.

Todas estas características son para el caso de *Staphylococcus aureus*.

### 4. Enzimas y Toxinas

El *Staphylococcus aureus* produce varias enzimas y toxinas (Wadström T., Thelestam M and Møllby R., 1974; - Arbohnott J.P., 1975). Algunos de ellos pueden tener -- significancia patogénica.

Muchas de las cepas de *Staphylococcus* son resistentes a la penicilina en virtud de la producción de penicilasa, enzima que destruye la penicilina, rompiendo el anillo beta lactámico. Su producción está regulada a nivel de plásmidos que pueden ser transferidos por bacteriofagos. Los plasmidos llevan también el control genético de la resistencia a otros antibióticos, como la tetraciclina y eritromicina. (Ruiz Palma M.S., 1986).

El *Staphylococcus* es capaz de producir enterotoxinas tales como A,B,C,D y E.

A enterotoxina de biotipos humanos.

A,B,C enterotoxinas producidas por algunos biotipos humanos y animales. (Dosu Adekeye, 1980).

Hemolisinas (toxinas alfa, beta y delta) parecen no tener mucha significancia en la patogenicidad del Staphylococcus para el hombre y animales.

Las cepas que producen hemolisinas beta son aisladas con más frecuencia de los animales que del hombre, - pero los intentos por separar las cepas de Staphylococcus aureus por las hemolisinas producidas o por los caracteres bioquímicos comunes, no han tenido mucho éxito (Cowan and Stell, 1979).

## II.- OBJETIVOS

"Aislamiento e identificación de agentes bacterianos involucrados en la Epididimitis ovina, de animales de rastro".

### III.- MATERIALES Y METODOS

3.1. Se trabajaron 101 testículos de ovinos sospechosos de estar infectados de Epididimitis, los cuales fueron obtenidas del "Rastro de Ferrería".

De los testículos del 1 al 101 fueron importadas -- del Estado de Texas.

Excepto: 51,76,77,78,79,80,81,82 y 83 fueron de origen Nacional del Estado de Coahuila.

#### 3.2. Procedimientos del Cultivo

Una vez obtenidos los testículos, estos fueron guardados en bolsas de polietileno y numeradas para llevar un control durante el tiempo que duró la investigación.

Ya en el laboratorio, se localizó el área afectada de los testículos, los cuales fueron trabajados sobre una charola limpia manteniendo una área estéril mediante el uso de mecheros.

Luego de iniciado el trabajo, los testículos fueron flameados y se procedió a hacerles un corte para tomar un trozo de éste y lavarlo con una solución estéril de cloruro de sodio al 0.85% y volver a flamear, después con las tijeras y el bisturí perfectamente desinfectados con alcohol y flameados para evitar contaminar la muestra se hizo el último corte ya para sembrarla sobre las cajas de agar sangre.

Después de sembrar las diferentes muestras en las cajas de agar sangre, se procedió a guardarlas en una campana de anaerobiosis y un indicador de CO<sub>2</sub>, para comprobar que se tenía un 10% de CO<sub>2</sub> que son las condiciones atmosféricas que requieren la mayoría de las bacterias aisladas, ésta campana fue guardada en una estufa a 37°C durante 5 días aproximadamente.

Luego de transcurrir este tiempo se abrieron las cajas y se observaron los diferentes tipos de bacterias -- que crecieron y cada una de las que se consideraron importa<sup>ntes</sup> se volvieron a resembrar en agar sangre o agar soya tripticasa y se desecharon los contaminantes y las que no se consideraban importantes, esta resiembra se hizo -- con las condiciones atmosféricas y de incubación arriba - mencionadas.

Una vez puras las bacterias se procedió a hacerles - tinciones de Gram para ver el tipo de bacteria de que se trataba y así poder clasificarlas como gram(+) o gram (+).

### 3.3. Identificación.

La diferenciación del género y la especie de cada - bacteria se hizo siguiendo la metodología descrita por Cowan and Stell, 1979; Alton, Jones and Pietz, 1975 Mac Fadin, 1976; y en el caso de las bacterias como son Acti nobacillus seminis e Histophilus. ovis (Histophilus: somnus) debido a que hay muy poca información en la literatura - sobre ellos se siguió la metodología de algunos autores - basados en diferentes artículos y basándose en las características generales de estos géneros. (Mac. Fadin, --- 1977; Rahaley, R.S., and White W.E., 1977; Cowan and ---- Stell, 1979; Low J.C., Graham M.M., 1985 et al.).

Las pruebas que se realizaron para llevar a cabo la identificación bacteriana fueron tinciones de gram, pruebas de catalasa, Oxidasa, OF, Motilidad (gota suspendida) Nitratos, SIM, Gelatina, Malonato, MR/VP, Leche Tornasol, Fermentación de Azúcares, Crec. en agar Mac. Conkey. (re ferencias en los cuadros 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14, 15 y 16).

## IV.- RESULTADOS

## 1.- Lesiones Macroscópicas.

Algunos de los testículos se observaron aumentados de tamaño con endurecimiento y enrojecimiento y otros -- presentaban un exudado purulento de color amarillento---verdoso.

## 2.- Aislamientos Bacterianos

De los 101 testículos trabajados, se lograron aislar e identificar las siguientes bacterias: Actinobacillus seminis, Histophilus ovis(Haemophilus ovis), Bruceella ovis, Pasteurella haemolytica, Corynebacterim ovis - (subsp. pseudotuberculosis), Corynebacterium pyogenes - (Actinomyces piogenes), Corynebacterium vaginalis, Streptococcus spp., y Staphylococcus spp.

Los resultados de este aislamiento se encuentran reportados en el cuadro #1, donde se da el número de bacterias aisladas y el porcentaje de cada una de ellas.

2.1.1. ACTINOBACILLUS SEMINIS

Se logró el aislamiento de 9 cepas de este género - y especie.

Las colonias se observaron a las 48hrs. de incubación presentando forma de punta de alfiler, semitraslúcidas, redondas, convexas, con borde entero, blanco grisáceas, miden de 1-2 micras de diámetro.

Fermentó carbohidratos como son Arabinosa, Fructosa, Trehalosa y Manitol.

Después de 3 a 4 días de incubación las bacterias - se observaban largas en forma de varilla, miden de 1 a 5 ó 6 micras, con margen ondulante, centro blanco grisáceo, forma umbonada.

Se observa un pequeño crecimiento en agar Mac. Conkey, No hemolíticas.

Todas las pruebas enzimáticas coincidieron con las clasificaciones dadas en los cuadros 3,4 y 5; según Cowan and Steel, 1979 y algunos autores de los diferentes artículos revisados y mencionados en esos mismos cuadros, ya que existe poca información en la literatura sobre esta bacteria.

### 2.1.2. HISTOPHILUS OVIS (HAEMOPHILUS SOMNUS)

De estas bacterias se aislaron 3 cepas.

Se observaron colonias convexas, lisas, brillantes, circulares, transparentes, con aproximadamente 1 micra de diámetro, no hemolíticas.

Se observó crecimiento en agar Mac. Conkey.

Fermentó carbohidratos tales como glucosa, arabinosa, fructosa, galactosa, maltosa, manitol, manosa, xilosa, excepto lactosa, trehalosa, ramnosa y salicin.

Para la identificación del género Histophilus, a los 3 aislamientos logrados se les realizó tinción de gram y pruebas bioquímicas y los resultados de estas pruebas se mencionan en el cuadro # 6 según datos reportados en diferentes artículos revisados y reportados por Rahaley R.S. and White W.E., 1977).

### 2.1.3. PASTEURELLA HAEMOLYTICA

En este caso también fueron 3 las cepas identificadas en este género.

A las 72 hrs. de incubación a 37°C, aeróbicamente, miden cerca de 1 micra de diámetro, redondas, umbonadas, semitraslúcidas, colonias amarillo-grisáceas, no hemolíticas.

Se observó crecimiento en agar Mac. Conkey.

Fermentaron ramosa, glucosa, galactosa, manosa, sucrosa, trehalosa, maltosa, esculina, glicerol, manitol y salicin. No fermentaron arabinosa, lactosa, rafinosa, almidón, dextrina, inulina, dulcitol, sorbitol e inositol.

La urea, el indol y el VP fueron negativos, la leche tornasol ligeramente alcalina.

La catalasa, nitratos y RM fueron positivos.

Los resultados de esta bacteria están dados en los cuadros # 9 y 10. Estos fueron comparados con los resultados obtenidos en nuestras pruebas bioquímicas y con los artículos reportados sobre esta bacteria.

#### 2.1.4. BRUCELLA OVIS

De esta bacteria unicamente se logró aislar una cepa.

Bacterias con 1-2 Micras de diámetro, ligeramente verdoso, hemolíticas, marcado olor, diferenciación central con zonas en el exterior grisáceas y blancas en el interior, inmóviles.

La catalasa fue positiva, la oxidasa, el nitrato, el indol, el citrato, el ac. sulfhídrico, el malonato y la leche tornasol fueron negativas.

La urea fue positiva. No fermentaron los carbohidratos.

Los resultados fueron comparados con datos reportados en los cuadros # 7 y 8 según Alton, Jones and Pietz, 1975 Mac Fadin, 1976.

#### 2.1.5. CORYNEBACTERIUM OVIS

De este género se aislaron un total de 25 cepas de las cuales:

Corynebacterium ovis se aislaron 3 cepas

Corynebacterium vaginalis un total de 16 cepas

Corynebacterium pyogenes se obtuvieron 4 cepas  
Corynebacterium spp se aislaron 2 cepas.

Forman colonias blanco-amarillentas, opacas, lisas.  
 En forma de varillas muy cortas, gram positivas, --  
 despues aparecen como cocos o cocobacilos, miden de 1-3  
 micras de longitud por 0.5 a 0.6 micras de ancho.

Se observa escasa zona de hemolisis. Catalasa y ---  
 Urea positivos.

Los nitratos fueron variables.

Los reusltados de esta bacteria fueron comparados -  
 con los resultados de los cuadros # 11 y 12 y basándose\_  
 en los artículos anteriormente mencionados.

#### 2.1.6. STAPHYLOCOCCUS SPP

Se aislaron un total de 29 cepas.

A los dos días de incubación se observó un creci---  
 miento de colonias pequeñas que miden de 1-3 mm de diáme  
 tro, convexo bajo, circulares, enteras, planas, brillan  
 tes, no producen pigmentos (esto debido al sistema de in  
 cubación que se utilizó, ya que estos m.o. por regla ge  
 neral forman pigmentos), no hemolíticas.

Catalasa y Oxidasa negativa

Los resultados de esta bacteria están dados en los\_  
 cuadros # 14, 15 y 16.

#### 2.1.7. STREPTOCOCCUS SPP.

Las bacterias aisladas en este caso fueron un total  
 de 36 cepas.

Bacterias cocoidales, gram positivas, las cuales --  
 crecen usualmente en cadenas de varias longitudes pero -  
 despues de un tiempo forman tetradas.

Los Streptococcus son facultativos con respecto al  
 oxígeno.

Oxidasa y catalasa negativas, nitratos variables positivos.

Los resultados de esta bacteria están dados en los cuadros # 13 y 16.

Como se puede observar a lo largo de los resultados reportados hubo muestras que presentaron mas de una bacterias y estas son resumidas en el siguiente cuadro.

BACTERIAS AISLADAS DE CADA UNO DE LOS TESTICULOS DE OVINOS  
ANALIZADOS

A. seminis	H. ovis	B. ovis	P. haemolytica	C. ovis	C. pyogenes	C. vaginalis	C. spp.
22, 27, 28, 39, 59, 65, 73, 76, 78.	24, 72, 82	91	5, 84, 99.	5, 9, 17.	34, 38, 64, 74, 98.	1, 6, 9, 22, 29, 42, 49, 57, 62, 85, 97, 98, 100, 101, 74, 99	78, 84

Staphylococcus spp.	Streptococcus spp.
8, 17, 24, 29, 30, 31, 37, 44, 46, 49, 51, 54, 62, 64, 65, 69, 72, 73, 74, 75, 76, 80, 81, 82, 83, 89 95, 96, 101.	8, 24, 25, 27, 30, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 47, 51, 55, 56, 59, 62, 63, 64, 65 66, 68, 74, 76, 79, 80, 81, 85, 89 90, 91, 92, 96, 99, 100, 44

Por lo tanto, en los resultados del cuadro No. 1, - mencionado anteriormente, se dan los porcentajes de cada bacteria y no del total de testículos.

Esto se comprueba con la observación macroscópica - que se hizo de los testículos, los cuales presentaban - diferentes características, como fueron endurecimiento, - enrojecimiento y otros presentaban exudado purulento ama rillo-verdoso.

Hubo algunas muestras de testículos que no presenta ron ningún crecimiento de bacterias importantes, unica- mente se observaron contaminantes. El total de estas mues tras fueron 39.

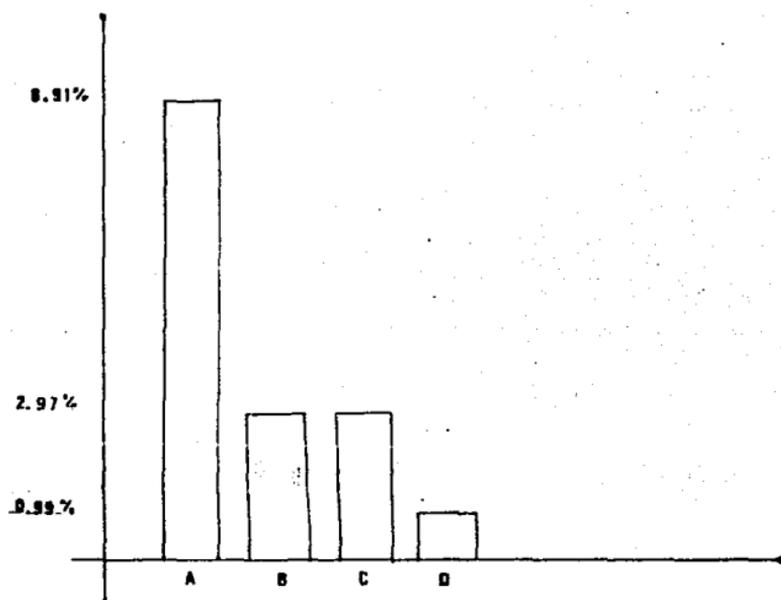
Relación de las diferentes asociaciones entre las bacterias aisladas.

Bacterias	No. de Casos
<i>Streptococcus</i> spp.	16
<i>Staphylococcus</i> spp.	11
<i>Streptococcus</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> spp.	8
<i>Corynebacterium vaginalis</i> .	4
<i>Corynebacterium vaginalis</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	3
<i>Corynebacterium vaginalis</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	3
<i>C. vaginalis</i> - <i>Streptococcus</i> spp.- <i>Staphylococcus</i> spp.	2
<i>Corynebacterium vaginalis</i> - <i>Corynebacterium ovis</i>	1
<i>Corynebacterium vaginalis</i> - <i>Corynebacterium pyogenes</i>	1
<i>Corynebacterium vaginalis</i> - <i>Actinobacillus seminis</i>	1
<i>C. Vaginalis</i> - <i>P. haemolytica</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	1
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	1
<i>C. pyogenes</i> - <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> spp.	3
<i>Corynebacterium ovis</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	1
<i>Corynebacterium ovis</i> - <i>Pasteurella haemolytica</i>	1
<i>Corynebacterium</i> spp.- <i>Actinobacillus seminis</i>	1
<i>Corynebacterium</i> spp.- <i>Pasteurella haemolytica</i>	1
<i>Brucella ovis</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	1
<i>Actinobacillus seminis</i>	1
<i>A. seminis</i> - <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> spp.	1
<i>Actinobacillus seminis</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	4
<i>Actinobacillus seminis</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	1
<i>Actinobacillus seminis</i> - <i>Corynebacterium</i> spp.	1
<i>Actinobacillus seminis</i> - <i>Corynebacterium vaginalis</i>	1
<i>Histophilus ovis</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	1
<i>H. ovis</i> - <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> spp.	2

A continuación se da una serie de gráficas de cada una de las bacterias, dando el porcentaje de asociación que tienen con otras bacterias.

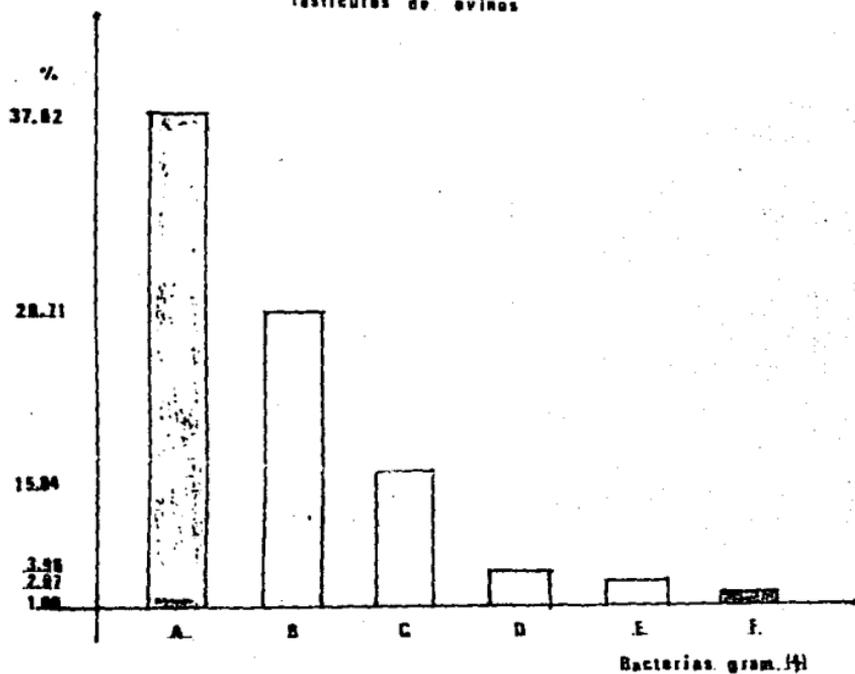
- Gráfica # 1 Porcentaje de bacterias gram negativas aisladas de testículos de ovinos.
- Gráfica # 2 Porcentaje de bacterias gram positivas aisladas de testículos de ovinos.
- Gráfica # 3 Porcentaje de bacterias gram positivas y gram negativas aisladas de testículos de ovinos.
- Gráfica # 4 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Actinobacillus seminis*.
- Gráfica # 5 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Histophilus ovis*.
- Gráfica # 6 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Pasteurella haemolytica*.
- Gráfica # 7 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Brucella ovis*.
- Gráfica # 8 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.*
- Gráfica # 9 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Corynebacterium vaginalis*.
- Gráfica #10 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Corynebacterium pyogenes*.
- Gráfica #11 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Corynebacterium ovis*.
- Gráfica #12 Porcentaje de bacterias asociadas con - *Corynebacterium spp.*
- Gráfica #13 Porcentaje del asilamiento bacteriano - en el total de 101 testículos.

GRAFICA No.1 Porcentaje de bacterias gram (-) aisladas de testiculos de ovinos



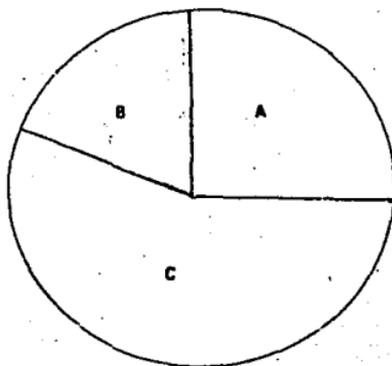
- A *Actinobacillus seminis*
- B *Histophilus ovis*
- C *Pasteurella haemolytica*
- D *Brucella ovis*

GRAFICA No. 2 Porcentaje de bacterias gram (+) aisladas de testiculos de ovinos



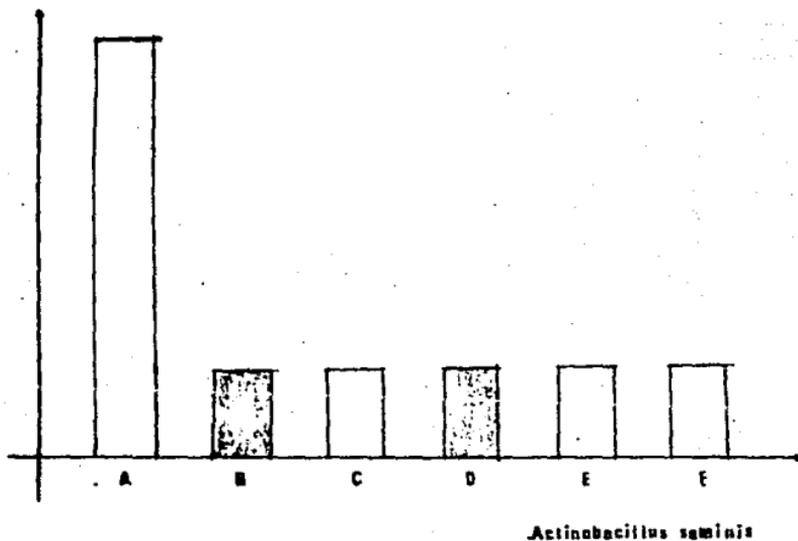
- A. *Streptococcus* spp.
- B. *Staphylococcus* spp.
- C. *C. vaginalis*
- D. *C. pyogenes*
- E. *C. ovis*
- F. *C. spp.*

**GRAFICA No.3** Porcentaje de bacterias gram (+) y gram (-) aisladas  
en las muestras analizadas

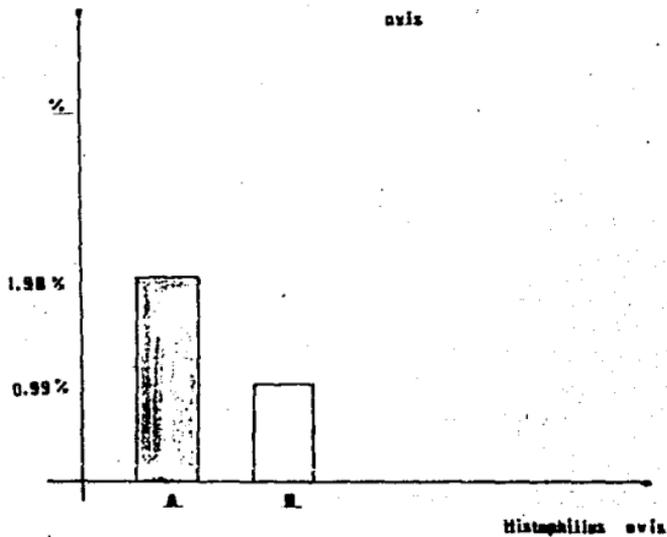


**A** 27.73% ausencia de bacterias  
**B** 12.87% gram (-)  
**C** 59.4 % gram (+)

**GRAFICA No.4** Porcentaje de bacterias asociadas con *Actinobacillus seminis*



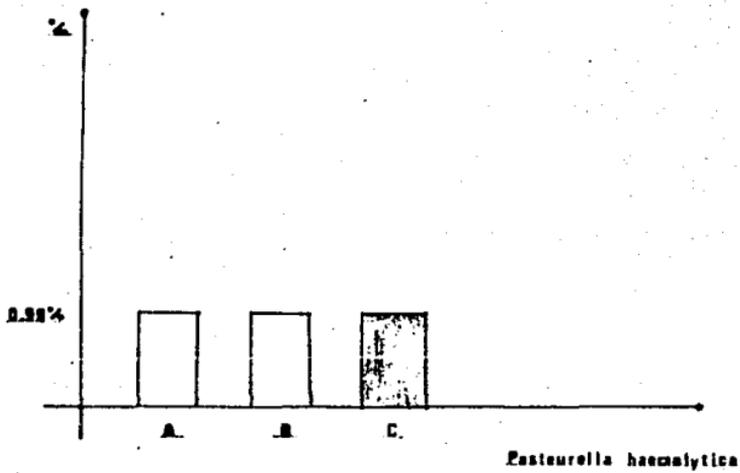
- A** *A. seminis* - *Streptococcus* spp.  
**B** *A. seminis* - *Streptococcus* spp.  
**C** *A. seminis* - *Staphylococcus* spp.  
**D** *A. seminis* - *Corynebacterium* spp.  
**E** *A. seminis* - *C. vaginalis*  
**F** *Actinobacillus seminis*

GRAFICA No.5 Porcentaje de bacterias asociadas con *Histophilus*

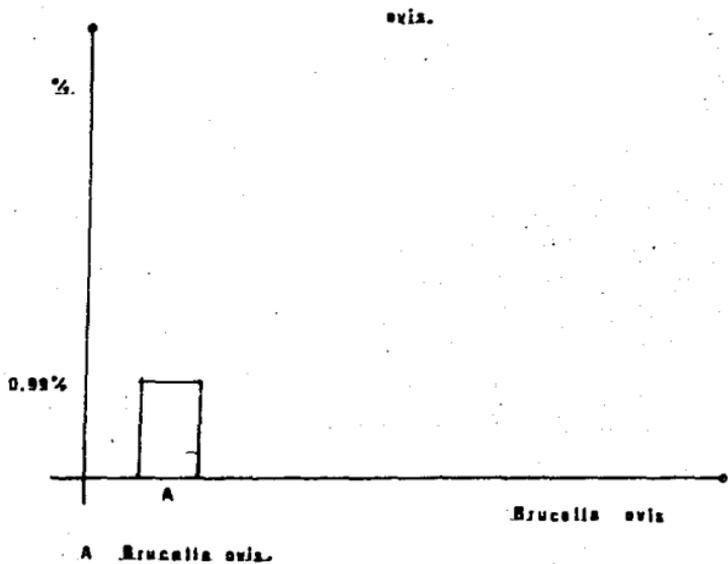
A. *H. ovis* - *Staphylococcus* spp.

B. *H. ovis* - *Staphylococcus* spp. - *Streptococcus* spp.

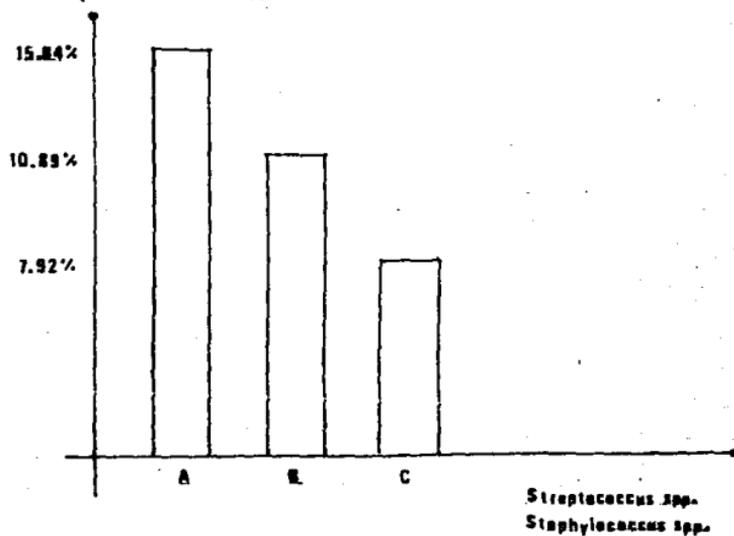
GRAFICA No. 6 Porcentaje de bacterias asociadas con  
*Pasteurella haemolytica*



- A. *P. haemolytica* - *Corynebacterium* spp.
- B. *P. haemolytica* - *Corynebacterium vaginalis*
- C. *P. haemolytica* - *Corynebacterium ovis*

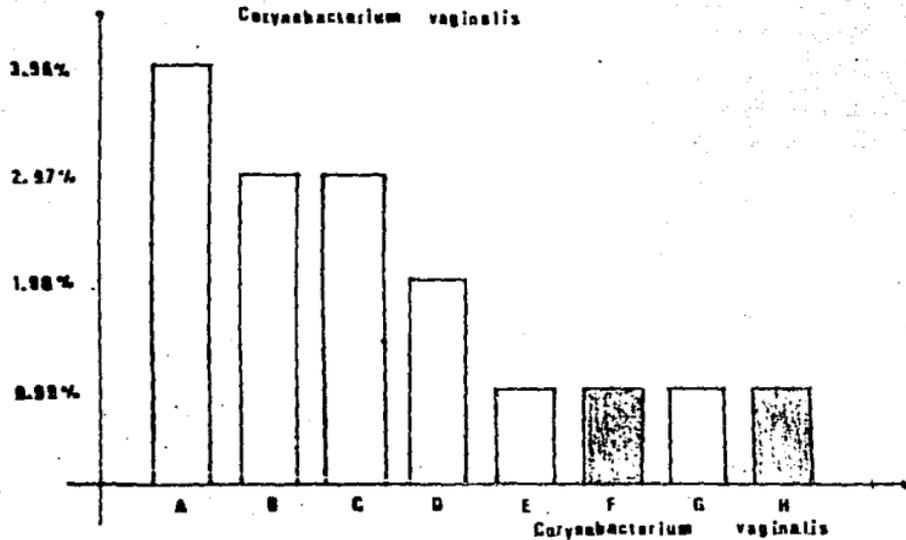
GRAFICA No.7 Porcentaje de bacterias asociadas con *Brucella*

GRAFICA No. 2 Porcentaje de la excrecion de Streptococcus spp. y Staphylococcus spp. en las orinas de testiculos de ovinos.



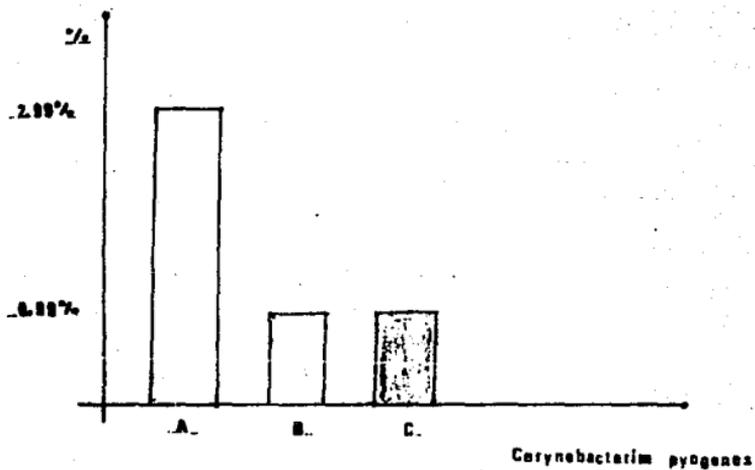
- A. Streptococcus spp.  
B. Staphylococcus spp.  
C. A y B.

GRAFICA No.9 Porcentaje de bacterias asociadas con

*Corynebacterium vaginalis*

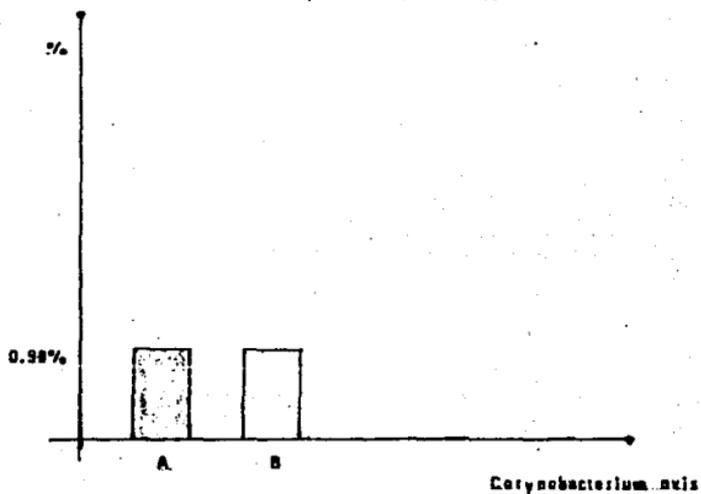
- A *Corynebacterium vaginalis*  
 B *C. vaginalis*-*Streptococcus* spp.  
 C *C. vaginalis*-*Staphylococcus* spp.  
 D *C. vaginalis*-*Streptococcus* spp.-*Staphylococcus* spp.  
 E *C. vaginalis*-*C. ovis*  
 F *C. vaginalis*-*C. pyogenes*  
 G *C. vaginalis*-*A. aximinis*  
 H *C. vaginalis*-*P. haemolytica*-*Streptococcus* spp.

GRAFICA No.10 Porcentaje de bacterias asociadas con  
*Corynebacterium pyogenes*



- A *C. pyogenes* - *Streptococcus* spp. - *Staphylococcus* spp.  
 B *C. pyogenes*  
 C *C. pyogenes* - *C. vaginalis*

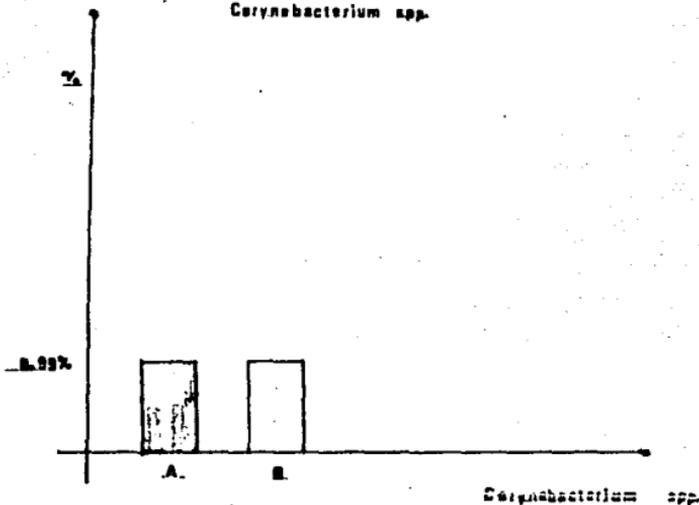
GRAFICA No.11 Porcentaje de bacterias asociadas con  
*Corynebacterium ovis*



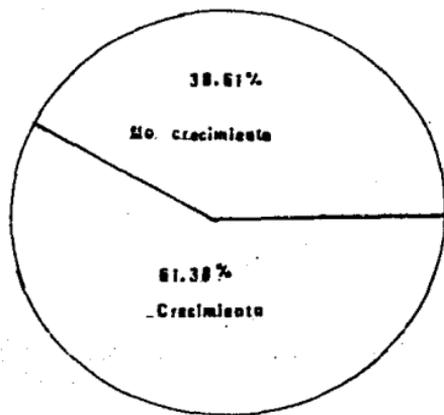
- A *C. ovis*-*Staphylococcus* spp.  
B *C. ovis*-*Pasteurella haemolytica*

GRAFICA No. 12 Porcentaje de bacterias asociadas con

Corynebacterium spp.

A. *Corynebacterium* spp.—*A. seminis*B. *Corynebacterium* spp.—*Pasteurella haemolytica*

**GRAFICA No.13** Porcentaje del aislamiento bacteriano obtenido del  
total de 101 testiculos analizados



Cuadro No. 1

RESULTADOS DE LA EXAMINACION POR TECNICAS DE CULTIVO DE  
101 TESTICULOS DE CARNEROS CON EPIDIDINITIS

BACTERIAS	No. DE BACTERIAS OBTENIDAS	PORCENTAJE TOTAL
<i>Streptococcus</i> spp.	38	37.62 %
<i>Staphylococcus</i> spp.	29	28.71 %
<i>Corynebacterium vaginalis</i>	16	15.84 %
<i>Actinobacillus seminis</i>	9	8.91 %
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	4	3.96 %
<i>Corynebacterium ovis</i>	3	2.97 %
<i>Histophilus ovis</i>	3	2.97 %
<i>Pasteurella haemolytica</i>	3	2.97 %
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	1.00 %
<i>Brucella ovis</i>	1	0.99 %

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE  
LA EPIDIDIMITIS

Cuadro No. 2

Pruebas	EPIDIDIMITIS
Catalasa	Lig. +
Oxidasa	-
MR/VP	-
Indol	-
Nitratos	-
Leche Tornasol	-
H <sub>2</sub> S	-
Sucrosa	-
Lactosa	-
Maltosa	-
Glucosa	-
Galactosa	-
Xylosa	-
Levulosa	-
Manosa	-
Arabinosa	-
Manitol	-
Dulcitol	-
Sorbitol	-
Salicin	-
Inositol	-
Rafinosa	-

(Kennedy Peter C., Frazier Lilian  
M., and Gowan Blaine, 1955).

Cuadro No. 3

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE  
ACTINOBACILLUS

Pruebas	Actinobacillus
Requerimientos de Oxígeno	F
Catalasa	+
Oxidasa	V <sup>+</sup>
Crec. en Agar Mac Conkey	G
Pigmentos de colonias superficiales	-
Reducción de Nitratos	+
Motilidad a 37°C	-
OF (Glucosa)	F
Licuefacción de Gelatina a 22°C	V
SH <sub>2</sub> (AcPb)	+
Indol	-
Citrato de Simmons	-
Ureasa de Cristensen	+
Rojo de Metilo	-
Voges-Proskauer	V <sup>-</sup>

(Mac Fadin, 1977)

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DEL  
ACTINOBACILLUS SEMINIS

Cuadro No. 4

Pruebas	Actinobacillus seminis
Catalasa	V
Oxidasa	-/V
Nitratos	(en medio semisólido) +
Motilidad	-
Indol	-
Urea	-
Leche Tornasol	-
Gelatina	No la licua
Malonato	-
Citrato	-
H <sub>2</sub> S(AcPb)	V
Glucosa	V
Maltosa	V
Lactosa	-
Trehalosa	-
Manitol	+
Salicin	-
Hemolisis	-
Agar Mac. Conkey	-
Ornitina descarboxilasa	-
Arginina dehidralasa	-

Livingston Charles W. and Hardy E.T., 1964.

Baynes I.D., and Simmons G.C., 1960.

Van Tonder E.M., 1979.

Swanepoel Martha L., 1984.

Sponenberg D.P., Carter M.E., Carter G.R.

Cordes D.O. and Stevens S.E., 1983.

Low J.C. and Graham M.M., 1985.

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO ACTINOBACILLUS

Cuadro No. 5

Pruebas	<u>A. lignicresii</u>	<u>A. equuli</u>	<u>A. suis</u>	<u>A. de la vagina de la cerda.</u>	<u>A. Actinomyces-mycetem-comitans.</u>
Motilidad	-	-	-	+	+
Catalasa	w	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	-
Crec. en agar					
Mac. Conkey	+	+	+	+	-
Arabinosa	d	-	+	+	-
Lactosa	(+)	+	+	-	-
Maltosa	+	+	+	-	+
Manitol	+	+	-	+	d
Rafinosa	-	+	+	-	-
Salicín	-	-	+	-	-
Sorbitol	d	-	-	.	-
Sacarosa	+	+	+	-	-
Trehalosa	-	+	+	-	-
Xilosa	+	+	+	+	d
ONPG	+	+	+	.	d
Hidrólisis de					
Esculina	-	-	+	.	-
Red. de nitratos	+	+	+	+	+
Red. de nitritos	.	.	.	.	.
Indol	-	-	-	.	-
Hidrolisis de la gelatina.	-	(+)	-	-	-
Ureasa	+	+	+	+	-
Descarboxilada de la ornitina	-	-	-	.	.
H <sub>2</sub> S	+	+	+	+	+

(.) reacción retardada en una prueba  
 . no conocida  
 w reacciones diferentes.

(Cowan and Stell, 1979).

CLASIFICACION DE LA ESPECIE DEL GENERO HISTOPHILUS

Cuadro No. 6

Pruebas	<i>Histophilus ovis</i>
Catalasa	-
Nitratos	+/-
Indol	+/-
H <sub>2</sub> S	-
Mac. Conkey	-
Motilidad	-
Hemolisis	+
Glucosa	+
Xylosa	+
Fructosa	+
Manosa	+
Manitol	+
Sorbitol	+
Arabinosa	-
Galactosa	-
Lactosa	-
Sucrosa	-
Trehalosa	-
Inulina	-
Esculina	-
Salicín	-
Adonitol	-
Dulcitol	-
Ornitina	+/-
Arginina	-
Leche Tornasol	-
Gelatina	-

Rahaley R.S., and White W.E., 1977.

Cuadro No. 7  
 DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO BRUCELLA

Pruebas	B. abortus	B. suis	B. melitensis	<sup>+</sup> B ovis	B. neotomas	B. canis
Crec. de Lactosa sobre Agar. Mac. Conkey.	-	-	-	-	-	-
Hemolisis sobre agar sangre	-	-	-	-	-	-
Motilidad a 37°C	-	-	-	-	-	-
Motilidad a 22°C	-	-	-	-	-	-
Oxidasa (positiva)	+	+	+	-	-	+
Ureasa (positiva)	+	+	+	-	+	+
Reac. de Nitratos	+	+	+	-	+	+
Utilización de Citrato.	-	-	-	-	-	-

(Alton, Jones, Pietz; 1975)

+ Bacteria que se logró aislar.

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO BRUCELLA

Cuadro No. 8

Catalasa positiva	P.	B.	B.	B.	¿.B.
Sin motilidad	Abortus	canis	melitensis	neotomae	ovis
Oxidadoras					
Oxidasa	+	+	+	+	+
Requerimientos de CO <sub>2</sub>	V <sup>+</sup>	-	-	-	+
Crec. de agar MacConkey	V	V	V	V	V
Red. de nitratos	+	+	+	+	-
Licuefacción de la gelatina a 22°C	-	-	-	-	-
SH <sub>2</sub> (AcPb)	V <sup>+</sup>	-	-	+	-
Indol	-	-	-	-	-
Citrato de Simmons	-	-	-	-	-
Ureasa de Christensen.	V <sup>+</sup>	V	V <sup>3</sup>	V	V
Rojo de Metilo	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-
Tionina <sup>2</sup>					
Conc. 1:25,000	NG	NG	NG	NG	G
Conc. 1:50,000	V <sup>+</sup>	NG	G	NG	G
Fucsina básica					
Conc. 1:50,000	G	G	G	G	G
Conc. 1:100,000	G	G	G	NG	G

2) utilizando agar con triptosa

3) lento

NC) se observa crecimiento

C) crecimiento

V<sup>+</sup>) variable positiva

¿ esta fue la única especie que se obtuvo  
(Mac Fadin, 1977).

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO PASTEURELLA

Cuadro No. 9

Pruebas	P. multocida	P. pneumotrópica	EP. haemolytica tipo T.	P. ureac
Hemólisis en agar - sangre.	a	-	+	+
Crec. de agar Mac. Conkey.	-	-	+	-
Indol	+	+	-	-
Ureasa	-	+	-	+
H <sub>2</sub> S	+	+	d	-
Ornitina des- carboxilasa	+	d	d	-
Manitol	+	-	+	+
Sorbitol	+	-	d	+
Trehalosa	d	+	d	-
Xilosa	d	d	+	-
Lactosa	-	d	d	-

a) la mayor parte (90%) o mas cepas negativas.

d) dudoso

§) bacteria que se aisló.

(The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1979).

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO PASTEURELLA

Cuadro No.10

Pruebas	P. multocida	P. pneumotro- pica.	P. ureae	P. haemolytica tipo A	¿P. haemolytica tipo T
Movilidad (22°C)	-	-	-	-	-
Catalasa	+	+	+	+	-
Oxidasa	d	+	+	+	+
Crec. agar Mac Conkey	-	-	-	+	+
Arabinosa	d	d	-	d	-
Lactosa	d	(d)	-	d	-
Maltosa	d	+	+	+	+
Manitol	+	-	+	+	+
Rafinosa	-	+	-	+	+
Salicin	-	-	-	-	+
Sorbitol	d	-	d	+	+
Sacarosa	+	+	+	+	+
Trehalosa	d	+	-	-	+
Xilosa	d	d	-	+	-
ONPG	d	+	-	d	-
Hidrolisis de la Esculina	-	-	-	d	+
Reducción de Nitratos.	+	+	+	+	+
Reducción de Nitritos	d	-	+	+	+
Indol	+	+	-	-	-
Hidrolisis de la gelatina	-	-	-	-	(+)
Ureasa	d	+	+	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	+

( ) reacción retardada en una prueba (Cowan and Steel, 1979)

d dudoso

¿ Pasteurella que se logró aislar.

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO CORYNEBACTERIUM

Cuadro No. 11

Pruebas	C. diphtheriae	<sup>4</sup> C. ovis	C. haemolyticum	<sup>4</sup> C. pyogenes	<sup>4</sup> C. renale
Catalasa	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
Hemólisis	(/)	(V)	(V)	(V)	(V)
O/F	(O/F)	(F)	(F)	(F)	(F)
Nitratos	(+)	(V)	(-)	(-)	(+)
Motilidad	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Glucosa	(A)	(A)	(A)	(A)	(A)
Lactosa	(-)	(V)	(A)	(A)	(-)
Sucrosa	(-)	(V)	(A)	(-)	(-)
Maltosa	(-)	(A)	(A)	(A)	(-)
Salicin	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Manitol	NR	(V)	(-)	(-)	(-)
Trehalosa	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Xilosa	NR	(V)	(-)	(A)	NR
VP	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
Urea	(-)	(V <sup>+</sup> )	(-)	(-)	(-)
Arginina	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Gelatina (22°C)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)

- A) ácido  
 F) fermentación  
 V) resultados variables  
 NR) no hay resultado  
 &) bacterias que se lograron

(Mac Fadin, 1976)

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO CORYNEBACTERIUM

CUADRO No. 12

Pruebas	C. diphtheriae	§C. ovis	C. hemolyticum	§C. pyogene	C. renales
Motilidad	-	-	-	-	-
Catalasa	+	+	+	-	+
Granulos meta- cromáticos.	d	+	d	d	+
Hemólisis	d	d	+	+	d
O/F	F	F	F	F	F
Glucosa	+	+	+	+	+
Lactosa	-	d	+	+	d
Maltosa	+	+	+	+	d
Manitol	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-
Almidón	d	+	d	+	d
Sacarosa	-	d	+	d	-
Xilosa	-	-	-	+	-
VP	-	-	-	-	-
Reducción de Ni- tratos.	+	d	-	-	+
Licuefacción de Gelatina	-	d	+	+	-
Urea	-	+	-	-	+
Arginina	-	+	-	-	+

d) dudoso

F) fermentación

§) bacterias con las que se trabajó

(Cowan and Stell, 1979).

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO STREPTOCOCCUS  
Cuadro No. 13

Pruebas	1	2	3
Movilidad	-	-	D
Catalasa (en presencia de sangre calentada)	-	-	d
Hemolisis			
Crecimiento a 45°C	-	D	+
Sobrevivencia a 60°C durante 30 minutos.	-	-	+
Crec. en un pH de 9.6	-	-	D
Crec. en bilis al 40%	D	D	+
Arabinosa (ácido)	-	-	D
Glicerol (ácido)	D	-	D

## Claves:

- 1) Streptococcus (subgrupo hemolítico)
  - 2) Streptococcus (subgrupo hemolítico)
  - 3) Streptococcus (subgrupo D; enterococcus)
- D) reacciones diferentes producidas por taxa inferiores (géneros, especies, variedades).
- d) 16-84% de las cepas son positivas (en algunas, muchas)

(Cowan and Stell, 1979)

CLASIFICACION DE LA ESPECIE DEL GENERO STAPHYLOCOCCUS SPP.  
Cuadro No. 14

Pruebas	Staphylococcus aureus	Staphylococcus epidermidis
Catalasa	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>
Hemolisis ASC 5%	+ <sup>2</sup>	V <sup>-</sup>
Pigmentación ASC 5%	V <sup>+3</sup>	V <sup>+4</sup>
Oxidasa	-	-
Reducción de Nitratos	+	V <sup>+</sup>
Motilidad	-	-
O-F (glucosa)	F	F
Aeróbico	A	A
Anaeróbico (glucosa)		
Aeróbico (manitol)	A	V <sup>-</sup>
Anaeróbico (manitol)		
ASM		
Crecimiento	G	G
Manitol	F	NF
Coagulasa (tubo)	+	-
Licuefacción de la gelatina a 22°C.	+	+ <sup>7</sup>
Voges-Proskauer	+	V <sup>+</sup>

## Claves:

- |                      |                     |                                      |
|----------------------|---------------------|--------------------------------------|
| 1) intensa           | G) crecimiento      | V) variable                          |
| 2) hemolítica        | F) fermentación     | ASM) placa de agar - sal con manitol |
| 3) dorado a amarillo |                     |                                      |
| 4) blanco            | NF) no fermentación | (agar manitol - salado)              |
| 7) lento             | A) ácido            |                                      |

(Mac Fadin, 1977)

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO STAPHYLOCOCCUS

Cuadro No. 15

Pruebas	Staphylococcus aureus	Staphylococcus epidermidis
Crec. en condiciones anaeróbicas	+	W
Oxidasa	-	-
Acción sobre los carbohidratos (F/0/-)	F	F
Glucosa	+	+
Lactosa	+	d
Maltosa	+	+
Manitol	+	d
Manitol (anaerobiosis)	+	-
Sacarosa	-	-
Xilosa	-	-
VP	+	d
Reducción de Nitratos	+	d
Licuefacción de la gelatina	+	d
Ureasa	+	d
Hidrólisis de la arginina	+	+
LV (reacción de la yema de huevo)	+	+
Formación de pigmento	+/-	+
Fosfatasa	+	d
Coagulasa	+	-

d) dudoso

F) fermentativo

+) bacteria que se logró aislar.

(Cowan and Stell, 1979)

Pruebas para la identificación de los géneros y especies - -  
Streptococcus y Staphylococcus

Cuadro No. 16

Pruebas	1	2	3	4	5
Gram	+	+	+	+	+
Agrupación	cocos en raci- mos	Cocos en racimos	Cocos en ca- denas y pa- rejas.	Cocos en cadenas y pare-- jas.	Diploco-- ccus en - forma lan- ceolada.
Coagulasa	+	-	-	-	-
Fermentación de					
Manitol	+	-	-	-	-
DNasa	+	-	-	-	-
Hemolisis					
beta	+	-	+	+	-
Bacitracina	-	-	+	-	-
Optoquina	-	-	-	-	+

- 1) Staphylococcus aureus
- 2) Staphylococcus epidermidis
- 3) Streptococcus del grupo A
- 4) Streptococcus no grupo A
- 5) Streptococcus pneumoniae.

(Pichardo R. Efren A., 1982)

Cuadro No. 17

## DIFERENCIACION

GENERO	CATALASA	RED. NITRATOS
Staphylococcus	+	V <sup>+</sup>
Streptococcus	-	V <sup>-</sup>
Corynebacterim	+	+

(Mac Fadin, 1979)

## V.- DISCUSION

La transición que sufre en la actualidad la Industria ovina en México, ha propiciado el desarrollo de sistemas intensivos de producción, así como la importación de sementales del extranjero, con lo cual se facilita la introducción y distribución de enfermedades que no se habían diagnosticado, o bien, la exacerbación de enfermedades ya presentes en nuestro medio (Pérez Edmundo, F.C.J. Ricardo De la Higuera Alberto, Tavera Trigo José, 1979).

La epididimitis representa un serio desorden reproductivo en el cual ocurren cambios patológicos marcados en el tracto genital de carneros afectados clínicamente, produciendo infertilidad, esterilidad e importantes problemas en áreas de cría de ovinos donde la enfermedad es prevalescente (Mark C. Hearly et al., 1985).

De acuerdo a los resultados obtenidos se confirma la presencia de las bacterias Actinobacillus seminis e Histophilus ovis (actualmente Haemophilus somnus). Estas son bacterias de difícil aislamiento por las condiciones tan estrictas que requieren para su crecimiento.

Tomando en cuenta los diferentes cuadros que se emplearon para su clasificación e identificación, el crecimiento en Agar Mac Conkey y la fermentación de algunos carbohidratos serían las únicas pruebas que no coincidirían pero según Claxton P.D. and Everrett R.E., 1966; Rahaley R. S. and White W.E., 1977; Rahaley R.S. and Edwards L.D., 1983 & Livingston C.E., and Hardy W.T., 1964. En sus artículos explican que algunos azúcares pueden ser variables como es el caso de la Arabinosa, Lactosa, Glucosa, Sucrosa y Manosa.

En cuanto al crecimiento que se observó en el agar Mac Conkey se dice que esta prueba no puede tomarse en -

cuenta para descartar a la bacteria como un Actinobacillus (Swanepoel Martha L., 1984).

En el caso de la Brucella ovis se hubiera comprobado completamente la especie si se contara con un antisueero pero como esto no fue posible unicamente nos basamos en sus características morfológicas y bioquímicas.

En el caso de la Pasteurella todas las pruebas coincidieron con las reportadas en los cuadros mencionados anteriormente, excepto en el caso del malonato, pero algunos autores la reportaron como variable (Jamienson J. & Soltys M.A., 1974).

Los Corynebacterim también fueron bien identificados, unicamente hubo dos géneros que no se logró identificar su especie.

Dentro de los Corynebacterium encontrados, en la literatura se ha dado especial importancia al Corynebacterium pyogenes y al Corynebacterim ovis ya que se han encontrado asociados a casos de abortos. Sin embargo, los demás podrían estar asociados al patógeno primario agravando el cuadro.

Los Streptococcus y Staphylococcus solamente fueron diferenciados por las pruebas de morfología y catalasa, habiendo sido importante hacerles otras pruebas para estar seguros de que tipo de especie eran.

Como se podrá observar a lo largo de este trabajo, fueron muy importantes los resultados obtenidos ya que se logró aislar varias bacterias importantes que no se habían aislado aquí en México o por lo menos no se tienen reportes oficiales como es el caso de Actinobacillus seminis y el Histophilus ovis (actualmente Haemophilus somnus).

También se aislaron las demás bacterias de menor im

portancia ya que de éstas si se tienen reportes en México pero parecen ser poco importantes en el problema de la Epididimitis, pudiera estar solamente agravando el cuadro, sin ser los agentes primarios.

Al analizar los datos en general se observa que los agentes bacterianos ya reconocidos como agentes causales de epididimitis son en un porcentaje relativamente bajo, esto pudiera ser debido a que el problema principal hubiera sido viral o por Mycoplasmas o por las técnicas de aislamiento o también a asociaciones virales y bacterianas.

Como se puede observar en la gráfica No. 1 en el caso de Actinobacillus seminis el porcentaje obtenido fue mas o menos representativo tomando en cuenta que las otras bacterias como es el caso de Histophilus ovis y Pasteurella haemolytica el porcentaje obtenido fue menor y en el caso de la Brucella éste porcentaje fue muy bajo pero esto puede ser debido a que las técnicas de aislamiento no fueron las apropiadas debido a que como las muestras estaban muy contaminadas se les hicieron varios lavados con sol. salina al 0.85%, y esto ocasionó que las bacterias se murieran.

En el caso de la gráfica No. 2 se observó el aislamiento de bacterias gram positivas, en este caso los porcentajes mas altos se presentaron en los Streptococcus y Staphylococcus spp., pero tal vez sean agente secundarios unicamente o en asociación con virus.

Los porcentajes más bajos se presentaron en el caso de los Corynebacterium.

La gráfica No. 3 presenta los porcentajes de bacterias gram positivas y gram negativas y como se pudo observar los porcentajes más bajos fueron en el caso de las bacterias gram negativas.

En las subsecuentes gráficas se observa el porcentaje de bacterias asociadas entre sí.

En la gráfica No. 4 se observa que el Actinobacillus se asocia con flora gram positiva que podría estar incrementando lesiones o manifestaciones piogénicas. Igual ocurre con el Histophilus ovis.

Actinobacillus seminis, Histophilus ovis (actualmente Haemophilus somnus) y Brucella ovis son considerados como el agente etiológico primario de mayor importancia en Epididimitis ovina.

De los Corynebacterium los Corynebacterium pyogenes y Corynebacterium ovis son bastante importante según (Brode K.A., Cutlip R.C. & Lemhmkubl H.D., 1980; Brown C.C., - 1987) pueden estar implicados en abortos. En este trabajo se encontró un porcentaje de 3.96% solos o asociados en un porcentaje de 11.88% lo que incrementaría el problema de infertilidad.

Respecto al aislamiento de Pasteurella haemolytica fue mínima y con asociación a Corynebacterium pyogenes podría deberse al problema de epididimitis a la asociación o posiblemente ya que fue demostrado como es implicado en problemas de aborto, también podría realizarse un estudio experimental con solo Pasteurella haemolytica para ver si es capaz por sí solo de desencadenar la Epididimitis.

En el caso de los Streptococcus spp., y Staphylococcus spp. podría ser que fueran agentes secundarios y que el agente primario fuera viral.

En el caso de las muestras que no presentaron crecimiento de bacterias (Gráfica No. 15) importantes únicamente de contaminantes, pero esto puede deberse a que las muestras no presentaban un agente bacteriano causante de la Epididimitis y pudiera tener causas fisiológicas únicamente.

Valdría la pena investigar agentes virales y por Mycoplasma.

## VI.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se logró el aislamiento de bacterias de Actinobacillus seminis e Histophilus ovis (actualmente Haemophilus somnus), a pesar de los requerimientos atmosféricos tan estrictos que se requerían para su crecimiento, esto en base a las pruebas bioquímicas realizadas y mencionadas anteriormente.
- También se logró el aislamiento de una cepa de Brucella ovis, aunque no se consiguió un antisuero para confirmar que realmente se tenía la especie ovis, pero de acuerdo a las pruebas bioquímicas que se le realizaron, se puede afirmar que se trata de este tipo de bacteria.
- El tipo de Pasteurella que se obtuvo fué haemolítica.
- También se encontró un Corynebacterium ovis.
- Se aislaron Corynebacterium pyogenes (actualmente Actinomyces pyogenes).
- Y también se logró el aislamiento de Corynebacterium vaginalis, Streptococcus spp. y Staphylococcus spp., aunque estas bacterias no son consideradas como agentes causantes del problema de Epididimitis, sino más bien como agentes secundarios de la enfermedad.
- Se invita a las personas interesadas en este tema a continuar la investigación, tratando de reproducir la enfermedad en borregos y realizarle pruebas Inmunológicas más específicas como es el caso de Fijación de Complemento, "Inhibición de la Hemaglutinación", etc., Esto con la finalidad de que esta investigación quede completamente confirmada, ya que es -

muy poca la información que existe en cuanto a los Actinobacillus seminis y el Histophilus ovis (Haemophilus somnus), que son bacterias de gran importancia debido a que la Epididimitis es un problema económico muy importante para los productores de carne ro, ya que produce pérdidas muy grandes a nivel de reproducción.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

- Adéyene Dosu  
Enterotoxin by strains of *Staphylococcal aureus* isolated from animals and man in Nigeria.  
Veterinary Microbiology, 5, 143-150; 1980.
- Adinerayana C. Reddy, Cornell C.P. and Fraga A.M.  
Chemically defined growth medium for *Corynebacterium pyogenes*.  
American Journal Veterinary Research, 41 (5), March 1980.
- Adlam C., Knights J.M., Mudridge Anne, Lindon J.C., -  
Backer P.R.W., Boesley J.E., Spacey Betty and Cray G.R.  
Purification, characterization and immunological properties of serotype-specific capsular polysaccharide of *Pasteurella haemolytica* (Serotype A1) organisms.  
Journal of General Microbiology, 130, 2415-2426; 1984
- Alsenosy A.M. and Dennis S.M.  
Pathology of acute experimental *Actinobacillus seminis* mastitis in ewes.  
Australian Veterinary Journal, 62 (7), 234-237; July 1985.
- Alton, Jones and Petz, 1975.  
Laboratory Techniques in Brucellosis  
World health Organization, Geneva.
- Bagley C.V., Pskett M.E., Mattheus N.J. and Stenquist N.J.  
Prevalence and causes of ram epididymitis in UTAH  
Journal of American Vet. Med. Assoc. 186(8), 798-801, April 15, 1985.
- Bagley C.V., Burrell W.C., Esplin G.M. and Walters J.

Effect of epididymitis on semen quality of rams.  
JAVMA, 185(8), 876-877; October 15, 1984.

- Batey R.G.  
 Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats.  
Australian Veterinary Journal, 63(9), September 1986
- Baynes I.D. and Simmons G.C.  
 Ovine Epididymitis by Actinobacillus seminis.  
The Australian Veterinary Journal, 454-459; December 1960.
- Baynes I.D., and Simmons G.C.  
 Clinical and Pathological studies of border leices -  
 ter ram naturally infected with Actinobacillus semi-  
 nis.  
Australian Veterinary Research, 44, 339-343; August  
 1968.
- Blasco Martínez J. Ma.  
 La epididimitis contagiosa del Morrucco (Infección -  
 por Brucella ovis) revisión bibliográfica.  
Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 1-47  
 Madrid 1983.
- Beauregard M. and Higgins R.  
 Ovine mastitis due to Histophilus ovis.  
Canadian Veterinary Journal, 24, 284-286; 1983.
- Bergey's  
Manual of determinative Bacteriology, 1979.
- Biberstein E.L. and Knight R.  
 Antimicrobial susceptibility patterns of the A and T  
 types of Pasteurella haemolytica.
- Bulgien Marie S and Anderson Bruce S.  
 Association of sexual experience with isolated of va-  
 rious bacteria in cases of ovine epididymitis.

- JAVMA, 182(4), 372-374, February 15, 1983.
- Bridge F.D. and Sneath P.M.A.  
Numerical taxonomy of Streptococcus.  
Journal of General Microbiology, 1983, 129, 565-597
  - Brodge K.A., Cutlip R.C. and Lehmkuhl H.D.  
Experimental Corynebacterium pseudotuberculosis infection in Lambs.  
American Journal Veterinary Research, 41(8), 1532-1534; August 1980.
  - Brown C.C., and Olander H.J.  
Caseous lymphadenitis of goats and sheep: A review.  
Veterinary Bulletin, 57, January 1987.
  - Bruere A.N., West D. and MacLachlan N.J.  
Genital infection of ram hoggest associated with a gram negative pleomorphic organism.  
New Zealand and Veterinary Journal, 25, 191-193; 1979.
  - Cameron C.M., Wilna F. Botha and Smith B.H.J.  
Antibody response to and immunity induced by Corynebacterium pyogenes vaccine.  
Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 43(3) 97-104; 1976.
  - Cameron R.D. and Leverman L.H.  
Characteristics of semen changes during Brucella ovis infection in rams.  
The Veterinary record, 99, 231-233; 1976.
  - Casas Olascoaga Raúl, Dúran del Campo Aníbal y Antigas Rivas Luis.  
La Epididimitis infecciosa de los carneros por Brucella ovis.  
Instituto de Ciencias Microbiológicas, 71-89, Mayo 15 1966.

- Chitralkaha Edwin, Tatini R. Sita, Trobel S. Randy and Maheswaran K. Samuel.  
Production of monoclonal antibodies to Staphylococcal enterotoxin A.  
Applied and Environment Microbiology, 48(6), 1171-1175 December 1984.
- Claxton P.D. and Everett R.E.  
Recovery of an organism resembling *Histophilus ovis* - from a ram.  
Australian Veterinary Journal, 42, 457-458; December 1966.
- Cowan S.T. and Stell K.J.  
Manual para la identificación de bacterias de importancia médica.  
Ed. Continental, 1979.
- De la Fuente R, Suárez G., and Schleifer.  
*Staphylococcal aureus subsp. anaerobius subsp. nov.*, the causal agent of abscess disease of sheep.  
International Journal of Systematic Bacteriology, - 31(1) 99-102, January 1985.
- De Long W.J., Waldhalm D.G. and Hall R.I.  
Bacterial isolates associated with epididymitis in - rams from Idaho and Eastern Oregon Flocks
- De Wett J.A.L. and Erasmus J.A.  
Epididymitis of rams in the central and southern districts of orange free state.  
Journal of the South African Veterinary Association, 55(4), 173-179; 1984.
- Ensminger M.E.  
Producción ovina.  
Edit. El Ateneo, Buenos Aires, Lima, Río de Janeiro. Montevideo, México, Barcelona, Bogotá.

- Erasmus J.A.  
The usefulness of the API 20 E classification system identification of *Actinobacillus actinomycetem comitans*, *Actinobacillus seminis* and *Pasteurella haemolytica*.  
Onderstepoort Journal Veterinary Research, 50, 97, - 99; 1983.
- Frank G.H.  
Serological groups among untypable bovine isolates of *Pasteurella haemolytica*.  
Journal of Clinical Microbiology, 12(4), 579-582, - October 1982.
- Gilmour N.J.L.  
*Pasteurella haemolytica* infection in sheep.  
The Veterinary Quality, 2(4), October 1980.
- Gilmour N.J.L., Donachie W., Fraser J. and Quirie M  
Susceptibility of specific pathogen-free lambs to - concentration of *Pasteurella haemolytica* serotype - A2 in aerosol.  
Research in Veterinary Science, 37, 374-375; 1984.
- Gunner Høi Sørense  
Comparative studies on *Corynebacterium pyogenes* toxin formation in monocultures and mixed cultures.  
Acta Veterinaria Scandinava, 21, 138-147; 1980.
- Glynn H. Frank and Wessman G.E.  
Rapid plate agglutination procedure for serotyping *Pasteurella haemolytica*.  
Journal of Clinical Microbiology, 7(2), 142-145, 78
- Grupta K.G., Blobel H., Bruckler J. and Schaefer N.  
Release of some Staphylococcal enzymes and toxins - under the influence of size of inoculum and time of incubation.  
Comp. Immun. Microbiol., 4(1), 107-109; 1981.

- Hughes K.L. and Claxton P.D.  
Brucella ovis infection. 1. An evaluation of Microbiological, Serological and Clinical Methods of --- Diagnosis in the ram.  
Australian Veterinary Journal, 44, 41-47; February 1968.
- Jamienson B.C.  
Infections epididymo-orchitis of rams associated -- with Pasteurella pseudotuberculosis.  
The Veterinary Record, 27(39), 351-353; July 19, - 1947.
- Jansen B.C.  
The aetiology of ram Epididymitis.  
Onderstepoort Journal Veterinary Research, 47, 101-107; 1980.
- Jansen B.C.  
A surgical technique for the experimental reproduction of Epididymitis.  
Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 47, - 281-283; 1980.
- Jansen B.C.  
The epidemiology of bacterial infection of the genitalia in rams.  
Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 50, - 275-282; 1983.
- Jansen B.C., Hayes, Marianna & Knoetze P.C.  
The reaction of ovine neutrophils to Histophilus ovis in relation to genital infection of rams.  
Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 51, - 269-270; 1984.
- Jansen B.C. & Hayes Marianna  
The acquisition of immunity to Histophilus ovis by - sheep in nature.

- Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 51, 269-270; 1984.
- Jansen B.C. Hayes Marianna & Knoetze P.C.  
Immunity against genital infection by *Histophilus ovis* in rams.  
Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 51, - 203-207; 1984.
  - John G. Holt  
The shorter Bergey's Manual of determinative Bacteriology.  
The Williams & Wilkins Company, 1979.
  - Kennedy Peter C., Fazier Lillian M. and Mc Gowan -- Blaine.  
Epidydimitis in rams: Pathology and Bacteriology
  - Kimura H. & Kusuda R.  
Studies on the pathogenesis of Staphylococcal infection in cultured yellowtails, *Seriola* spp., effect of crude exotoxin fractions from cell-free culture on experimental Streptococcal infection.  
Journal of Fish Disease, 5, 471-478; 1982.
  - Lee K., Cargill C. and Atlinson H.  
Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams.  
Australian Veterinary Journal, 62(3), 91-93; March - 1985.
  - Lennette H. Edwin., Balows Albert, Hausler H. Williams Truant P. Joseph.  
Manual of Clinical Microbiology, 1980.-
  - Libal M.C. and Kirbride C.A.  
Brucella ovis induced abortion in ewes  
JAVMA, 183 (5), 553-554; September 1983.

- Livingston Charles W. and Hardy T.  
Isolatin of Actinobacillus seminis from ovine epidy-  
dimitis.  
American Journal Veterinary Research, 25(106), 660 -  
663; 1984.
- Lozano E.A.  
Etiology significance of bacterial isolates from --  
rams with palpable epidydimitis.  
American Journal Veterinary Research, 47(5), 1153 -  
1156; Nay 1986.
- Low J.C. & Graham M.M.  
Histophilus ovis epidydimitis in a ram in the UK.  
Veterinary Record, 117, 64-65; 1985.
- Mac. Fadin J.F.  
Biochemical test for identification of medical bac-  
teria.  
The Williams and Wilkins Company Baltimore, 311, -  
1979.
- Mac Gillivery D.J., Webber J.J. & Dean H.F.  
Characterization of Histophilus ovis and related or-  
ganism by restriction endonucleasa analysis.  
Australian Veterinary Journal, 63, 389-393.
- Maheswaran S.K., Bergreen K.A., Simonson R.R., Ward  
G.E. and Muscoplal C.C.  
Kinetics of interation and fate of Pasteurella hae-  
molytica in bovine alveolar macrophagos.  
Infection and Immunity, 30(1), 254-262; October 1980
- Mark C. Healey, Stephen H. Kleinschuster, Heman M. -  
Charpure Alice V. Johnston.  
Production and preliminary characterization of mono-  
clonal antibodies, to Actinobacillus spp. isolated -  
from epidymitis lesions in a ram.

American Journal Veterinary Research, 46(6), June 1985.

- Mercy A.R., Robertson G.M. & Goulder R.K.  
The prevalence of ovine brucellosis in cull merino rams in Western Australia.  
Australian Veterinary Journal, 62(4), April 1965.
- Mogollón G., José D., & Alba L. de Calvis.  
Aislamiento y Serotipificación de *Pasteurella haemolytica* en ovinos.
- Mraz O., Sisk F. and Jelens P.  
The *Pasteurella* form and Laboratory animals.  
Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 2, 437-445; - 1980.
- Mwangota A.V., Muhammed S.I., and Tomson R.G.  
Serological types of *Pasteurella haemolytica* in Kenya  
Department of Veterinary Pathology and Microbiology 84-93; May 20, 1977.
- Nilo L.  
Diagnosis of ovine Brucellosis  
Canadian Veterinary Journal, 25, 118-119; 1984.
- Plant J.W., Eamans C.J. & Seaman J.T.  
Serological, Bacteriological and Pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*.  
Australian Veterinary Journal, 63.
- Perez Edmundo, F.C. Ricardo, De la Higuera J. Roberto, Trigo Tavera Francisco José.  
Diagnóstico y descripción de un brote de Epididimitis Ovína en México originado por una *Brucella ovis*  
Veterinaria F.M.V.Z.-U.N.A.M. 10(4), 221-226; 1979.

- Rahaley R.S. and White W.E.  
Histophilus ovis infection in sheep in Eastern Victoria.  
Australian Veterinary Journal, 53, 124-127; March - 1977.
- Rahaley M.V.  
Histophilus ovis infection in ewes.  
Canadian Veterinary Journal, 24, 60-62; 1983.
- Rahaley R.S. and Dennis M.  
Histopathology of experimental Brucellosis in rams - following vaccination with Brucella ovis.  
Australian Veterinary Journal, 61(11), November 84.
- Reddy C.A., Cornell C.P. and Fraga A.M.  
Transfer of Corynebacterium pyogenes (Glage) Ebersson to the genus Actinomyces as Actinomyces pyogenes --- (Glage) comb. nov.  
International Journal of systematic Bacteriology, - 419-429; October 1982.
- Richard L. Walker and Brad R. Lea Master  
Prevalence of Histophilus ovis and Actinobacillus - seminis in the genital tract of sheep.  
American Journal Veterinary Research, 47(9), September 1987.
- Rimsay R.L., Coyle-Dennis J.E., Laverman L.H. & Squire P.G.  
Purification and biological characterization of endotoxin fractions from Pasteurella haemolytica.  
American Journal Veterinary Research, 42(12), 2134-- 2138; December 1981.
- Roberts D.S.  
A new pathogen from a ewe with mastitis.  
The Australian Veterinary, 330-332; December 1986.

- Robbins Ruth, Gould Sera & Berydell.  
Detecting the enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains.  
Applied Microbiology, 28(6), 946-950, 1974.
- Rothwell J.T., Gould Sera and Berydell  
Examination of rams culled during and ovine brucellosis accredited free flock scheme.  
Australian Veterinary Journal, 63(7),; July 1983.
- Schwan O.  
IgE antibody response to *Corynebacterium pyogenes*, -  
*peptococcus indolicus* and microaerophilic cocci in -  
natural and experimental mastitis.  
Veterinary Microbiology, 5, 19-34; 1980.
- Searon J.E.  
Distribution of *Brucella ovis* in the tissues of rams reacting in a Complement fixation test for ovine Brucellosis.  
Australian Veterinary Journal, 63(1),; January 1986.
- Simmons G.C. Baynes I.D. and Ludford G.C.  
Epidemiology of *Actinobacillus seminis* in a Flock of Border Leicester sheep.  
Australian Veterinary Journal, 42, 183-187; May 1966
- Spencer T.L. and Burgess G.W.  
Enzyme-linked immunosorbent assay for *Brucella ovis* -  
specific antibody in ram sera.  
Research in Veterinary Science, 36, 194-198; 1984.
- Sponenberg D.P. and Carter M.E.  
Suppurative epididymitis in a ram infected with *Actinobacillus seminis*.  
JAVMA, 182(8), 99; May 1, 1983.
- Srivastava S.k., Barnum D.A., and Prescott J.F.  
Production and biological properties of M-protein of *Streptococcus equi*.

Research in Veterinary Science, 38, 184-189; 1985.-

- Sutherland A.D. & Redmond J.  
Citotoxin from an ovine strain of *Pasteurella haemolytica* characterisation studies and partial purification.  
Veterinary Microbiology, 11, 337-347; 1986.
- Swanepoel Martha L.  
A study for the differentiation of *Actinobacillus seminis*, *Actinobacillus actinomycetem-comitans*, *Histophilus ovis* and *Pasteurella haemolytica*.  
Onderstepoort Journal Veterinary Research, 51, 41-46; 1984.
- Ungureanu C., and Schimmel D.  
Study of the character of *Pasteurella haemolytica* strains isolated from cattle and sheep.  
Archiva Veterinaria, 81.
- Van Tonder E.M.  
*Actinobacillus seminis* infection in sheep in the Republic of South Africa. I. Identification of the problem.  
Onderstepoort Journal Veterinary Research, 46, 129-133; 1979.
- Van Tonder E.M.  
*Actinobacillus seminis* infection in sheep in the Republic of South Africa. II. Incidence and Geographical distribution.  
Onderstepoort Journal Veterinary Research, 46, 135-140; 1979.
- Van Tonder E.M.  
*Actinobacillus seminis* in sheep in the Republic of South Africa. III. Growth and Cultural characteristics of *Actinobacillus seminis*.

Onderstepoort Journal Veterinary Research, 46, 141-148; 1979.

- Watt D.A.  
Investigations of ovine brucellosis in Merino rams\_ of Western Australia.  
Australian Veterinary Journal, 46, 506-508; October 1970.
- Webb R.F., Quinn C.A., Cockram F.A. and Husband A.J.  
Evaluation of procedures for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams.  
Australian Veterinary Journal, 56, 172-174; April, - 1980.
- Williamson P. and Nairn M.E.  
Lesions caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the scrotum of rams.  
Australian Veterinary Journal, 56, October 1980.
- Worthington R.W., Stevenson B.J. and Lisle G.W.  
Serology and semen culture for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in chronically infected rams.  
New Zealand Veterinary Journal, 33, 84-86; 1985.