

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Contribución al Estudio Bacteriológico de

Asesor de Tesis: M.V.Z. JORGE TORRES BARRANCA





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

I - INTRODUCCION

II- MATERIAL Y METODOS

III- RESULTADOS

IV- DISCUSION

V- CONCLUSIONES

VI- BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

Se penso en algún tiempo que la miel podia ser - un vehiculo transmisor de enfermedades, a raiz de esto - diversos investigadores demostrarón lo contrario, ya -- que posee un efecto bactericida y que este era debido a un nH bajo, elevada concentración de azucar y una subs-- tancia llamada inhibina.

Dentro de las bacterías aisladas en la miel sereporta que son principalmente del genero Bacillus.

Se tomaron 100 muestras de miel listas para enva sarse procedentes de diferentes partes de la Republicase sembraron diferentes medios de cultivo.

Los resultados fueron

Bacillus larvae se aislo 21 veces (39.63%)

Bacillus alvei se aislo 10 veces (18.87%)

Bacillus apiarius se aislo 6 veces (11.33%)

Bacillus laterosporus se aislo 3 veces (5.66%)

Staphylococcus epidermidis se aislo 2 veces (3.77%)

Strep tococcus faecalis se aislo 2 veces (3.77%)

Streptococcus zooepidemicus se aislo 1 vez (1.88%)

Staphylococcus aureus se aislo 1 vez (1.88%)

Streptococcus faecium se aislo 1 vez (1.98%)

Bacillus Spp se aislo 6 veces (11.33%)

De las 100 muestras trabajadas unicamente hubo - crecimiento bacteriano en 43 de ellas .

Solo en 7 ocasiones fue posible aislar bacterias

no esporuladas de las cuales solamente una de ellas p<u>o</u> dria tener un efecto enteropatogeno, siendo esta Staph<u>y</u> lococcus aureus.

1. - INTRODUCCION

La miel es un producto que ha adquirido gran mercado en los últimos años, dado a ésto México es un país privilegiado ya que es el primer exportador y - tercer productor de la miel en el mundo, lo que represen ta la entrada de divisas por varios millones de pesos al año, proviniendo éstas principalmente de países - Europeos, E.U.A. y Japón (8).

Se calcula que en el año de 1974, la producción fue de 30,467,629 Kg de los cuales 8,400,000 Kg se destinaron para comsumo interno y 22,067,629 Kg para la exportación. En el año de 1976 aumentaron nuestras exportaciónes a 49,918,711 Kg con un valor superior a los 404 millones de pesos (4,8).

Por mucho tiempo se penso que la miel podría ser un medio de transmisión de enfermedades gastrointestinales, debido a su composición en azúcares, - aminoácidos, vitaminas y minerales. A raíz de ésto se hizo en experimento por W.G. Sackett (se cita en el No. 7), quien demostró que la miel posee un - efecto antiséptico. Los resultados de sus análisis fueron los siguientes:

- a) Proteus vulgaris muere en la miel después de 4 días.
- b)- <u>Salmonella paratiphy y S. schotmulleri</u> mueren en la miel después de 24 horas.
- c)- Shigella disenteriae es destruida en 10 horas.
- A.G. Lochead (se cita en el No. 7), comprobó el poder antiséptico de la miel y lo atribuye a su-alta acidez y concentración de azúcares.

Mc. Clesky y Melanpy (se cita en el No. 7), tomaron varias bacterias incluyendo entre otras a -Staphylococcus aureus para hacer un estudio - - - comparativo entre el poder antiséptico de la miel y otros desinfectantes, obteniendo los siguientes resultados;

El efecto bacteriostático de la miel fue menor - al de los cumpuestos mercuriales, pero mayor al de los fenoles. El poder bactericida fue variable y se cree que la variación de debió a distintas procedencias y otros factores tales como, humedad, acidez, concentración de - azúcares y p.H.

La jalea real pura mató al Staphylococcus aureus en 30" y diluída en una proporción de 1:10 en menos de media hora. El poder germicida es disminuido si se le aumenta su p.H.

Sin embargo, sabemos tambien que la miel sufre frecuentemente adulteraciones con otro tipo de mieles - (miel de maíz, miel de caña, etc.), lo que provoca que se disminuya el poder bactericida propio de la miel (10,11).

En 1937 Dold aisló una substancia en la miel a la que llamó inhibina, la cual poseía un efecto antibacteriano y era termolabil.

En 1963 White et al. mostraron que la inhibina era el peróxido de nidrógeno y que este variaba en concentración según la muestra. Sin embargo varios reportes, mencionan que la miel es un antiséptico que no es efectivo contra todas las bacterias, ya que las que tienen la capacidad de esporular no son afectadas y permanecen en este estado en la miel durante largos períodos de tiempo. Se ha reportado el aislamiento de gérmenes del genero — Bacillus a partir de la miel (7,1,9,10,11).

Existe en las abejas una enfermedad llamada "Loque" la cual presenta dos variedades:

1º Loque Americana. - Tambien conocida como la pudrición maligna de la cría, cuyo agente etiológico es el <u>Bacillus</u> <u>larvae</u> (12).

La infección se produce cuando las esporas del Bacillus larvae son ingeridas con el alimento por las larvas de las abejas menores de dos días, las esporas al llegar al intestino, germinan, cambiando a la forma vegetativa, se multiplican y cuando la larva empupa, la bacteria
atraviesa el epitelio intestinal, llegando a la hemolinfa,
a través de la cual de distribuyen a otros tejidos de la pupa ó ninfa, donde se reproducen activamente los gérmenes.
Las toxinas que producen las bacterias, causan la muerte
de la futura abeja y cuando esto ocurre, las bacterias pasan nuevamente del estado vegetativo al estado esporulado.

Las manifestaciones clínicas más importantes de - las prepupas y pupas enfermas de Loque americana, son su - cambio de color del blanco nacarado a un amarillo ó café, se deforma el cuerpo y se produce una marcada viscosidad de color café obscuro ó negro (12).

El opérculo de la celda se hunde, a veces se perfora y 2 ó 3 semanas después el cadáver se seca y forma una escama adherida al piso de la celda.

La transmisión del agente causal de la enfermedad, se lleva a cabo, dentro de las colmenas por las mismas - abejas, especialmente las llamadas nodrizas que tienen - la función de nutrir a las larvas jóvenes con alimentos que pueden estar contaminados con las esporas de - - - Bacillus larvae. De una colonia de abejas a otras, la - transmisión se realiza a través de las abejas llamadas - "pilladoras" cuando éstas roban miel contaminada de las -

colmenas enfermas, así como cuando las abejas jóvenes de colonias afectadas, en sus primeros vuelos se equivocande colmena y se introducen a las colmenas sanas.

Por los daños que causa la loque americana, esla enfermedad de las abejas que más pérdidas ocasiona ala apicultura en el mundo, ya que cuando la enfermedad se presenta en las colonias de abejas, casi en su totali dad, les causa la muerte, si no se les proporciona medica mentos y se toman medidas sanitarias para combatirlas.

La loque americana, se presenta practicamente en todas las zonas del país donde existen abejas, sin -embargo, en algunas regiones aisladas con baja densidadde colonías, causa daño solo ocasionalmente (12).

2º Loque Europea. - Recibe también los nombres de Loque benigna y cría avinagrada, es causada fundamentalmente-por el <u>Streptococcus pluton</u>, actuando posteriormente -- otras bactérias secundarias como el <u>Bacillus alvei</u>, el -<u>Bacterium eurydice</u>, <u>Streptococcus faecalis</u> y otras(12).

El <u>Streptococcus pluton</u>, es ingerido por las larvas y se multiplica rápidamente dentro de la cavidad intestinal asimilando el alimento a tal grado que produce la desnutrición de la larva, lo cual puede ocasionar la muerte, pero más frecuentemente se presenta la asociación de gérmenes secundarios como los anteriormente mencionados, que causan un mayor número de larvas muertas.

La loque europea se presenta con mayor incidencia en las temporadas de sequía, frios ó al inicio de las épocas de lluvia coincidiendo con el tiempo en queescasean los alimentos en las colonias de abejas. La transmisión de la enfermedad la realizan las abejas ---

obreras cuando nutren a las larvas con alimentos --contaminados.

También contribuyen a la diseminación de los gérmenes, las abejas pilladoras y las que se confunden de colmena ó a través del apicultor.

Cuando la enfermedad se inicia en una colmena, el proceso puede ser reversible y la colonia deabejas llega a recuperarse, sin la intervención delapicultor, especialmente si se presenta en una época
de floración en que abundan los alimentos en la --colmena. Sin embargo un porcentaje elevado, superior
al 70° de colonias de abejas enfermas permanecen con
la infección en forma endémica mermando su productividad y mueren debido a ella.

La importancia económica de la loque europea radica principalmente en la disminución de los rendimientos por colmena y el hecho de que muchas colonias de abejas enfermas cronicamente permanecen improductivas, además de las pérdidas ocasionadas por las poblaciones muertas. (12).

Esta enfermedad está difundida en forma end $\underline{6}$ mica, prácticamente en todas las zonas apicolas de - México. (12).

El objeto del presente trabajo es tratar deaíslar a partir de la miel de abeja envasada, bacterias enteropatógenas, que pudieran ser ingeridas por el hombre, ya que la miel llega al consumidor sin -ningún control de pureza y esterilización como lo es la pasteurización, ebullición, etc.

Además se tratará de contribuir en México al estudio de la distribución de la loque americana y europea, en base al aislamiento de los agentes etiol $\underline{\phi}$ gicos.

II .- MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL

- 1.- Frascos Estériles.
- 2.- Agar Verde Brillante. *
- 3.- Agar Mc. Conkey. *
- 4. Gelosa Sangre. *
- 5.- Agar Bismuto Sulfito.*
- 6.- Agar Almidón.*
- 7.- Caldo Lactosa. *
- 8.- Caldo Tetrationato. * ...
 - 9.- Medios para pruebas Bioquímicas.
 - 10.- Plásma de Conejo.*
 - 11.- Asa Bacteriológica.
 - 12.- Equipo para la Tinción de Gram.

^{*} DIFCO LABORATORIES - Detroit Michigan, U.S.A.

-METODOS

Se tomaron en frascos estériles, 100 muestras de miel de abeja lista para envasarse, procedentes de diferentes - partes de la República.

Las muestras fueron transportadas en Refrigeración al Laboratorio Regional de Patologia Animal del D.F., dependiente de la Dirección de Sanidad Animal - S.A.R.H.-, - donde se realizaron las siembras en diferentes medios de cultivo.

Se agrego 1 gr de cada muestra tanto en medios de preenriquecimiento conteniendo 10 ml de caldo lactosa, como en medios de enriquecimiento con 10 ml de caldo tetrationato, los cuales se incubaron a 37°C. durante 24 horas, transfiriendose posteriormente a través de una asa a medios de cultivo selectivos como son: Agar Bismuto Sulfito y Agar Verde Brillante.

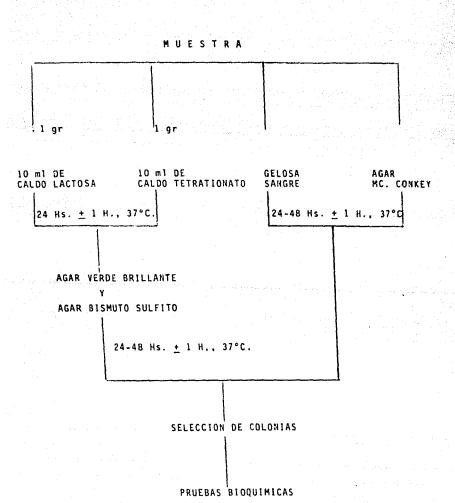
También se sembró a partir de la muestra en forma directa de Gelosa Sangre y Agar Mc. Conkey, incubándose los medios de cultivo durante 24 - 48 horas a 37°C.

Se seleccionaron los diferentes tipos de colonias para hacer la identificación final de los gérmenes de acuerdo a la técnica indicada por Cowan y Steel (3).

Cuando se trato de gérmenes del género <u>Bacillus</u>, la identificación de la especie se hizo de acuerdo a -Bergeys Manual of Determinative Bacteriology (1).

CUADRO No. 1A-

PROCEDIMIENTO MEDIANTE EL CUAL SE TRABAJARON LAS MUESTRAS



III- RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, se presentan en forma de cuadros, indicando en el No. 1 - Tipos de gérmenes aislados y su procedencia, en el cuadro No. 2 se indica el número de muestras en las cuales no se obtuvo ningún crecimiento bacteriano, mientras que en el - cuadro No. 3 se hace un resumen del número de veces que se hizo el aislamiento de gérmenes y su porcentaje.

RESULTADOS: <u>CUADRO NO. 1</u>

GERMENES AISLADOS A PARTIR DE LA MIEL Y SU PROCEDENCIA

NO. DE MUESTRA	GERMENES AISLADOS	PROCEDENCIA
2	BACILLUS LARVAE	VERACRUZ
8	BACILLUS SPP.	
13	STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS BACILLUS LARVAE	VERACRUZ
	BACILLUS ALVEI	DAXACA
14	BACILLUS ALVEI	
15	STREPTOCOCCUS FAECALIS	CUAUTLA, MOR.
16	BACILLUS LARVAE	MILPA ALTA D.F.
[9	BACILLUS LARVAE	LAGO DE GUADALUPE D.F.
20	BACILLUS ALVEI BACILLUS SPP.	LAGO DE GUADALUPE D.F.
24	BACILLUS APIARIUS	PUEBLA
27	BACILLUS LARVAE	PUEBLA
29	BACILLUS LARVAE	PUEBLA
	BACILLUS LATEROSPORUS	PUEBLA
30	BACILLUS LATEROSPORUS	DAXACA
31	BACILLUS LARVAE	OAXACA
32	BACILLUS LARVAE	OAXACA
38	BACILLUS ALVEI	·
. 42	BACILLUS SPP.	DAXACA
46	STREPTOCOCCUS FAECALIS BACILLUS LARVAE	MORELOS
47	BACILLUS APIARIUS	MORELOS
50	BACILLUS LARVAE	MORELOS
52	STREPTOCOCCUS ZODEPIDEMICUS	XOCHIMILCO D.F.
53	BACILLUS APIARIUS	XOCHIMILCO D.F.
54	BACILLUS LARVAE	XOCHIMILCO O.F.
55	BACILLUS LARVAE	XOCHIMILCO D.F.
61	BACILLUS APIARIUS	XOCHIMILCO D.F.
	BACILLUS SPP.	HIDALGO
63 65	BACILLUS ALVEI	HIDALGO
66	BACILLUS ALVEI	HIDALGO
	BACILLUS LARVAE	HIDALGO
68 70	BACILLUS ALVEI	HIDALGO
10	BACILLUS ALVEI	CHIHUAHUA

Continuación:

NO. DE MUESTRA	GERMENES AISLADOS	PROCEDENCIA
71	BACILLUS LARVAE	CHIHUAHUA
72	BACILLUS LARVAE STREPTOCOCCUS EPIDERMIDIS	D.F.
75	BACILLUS LARVAE	D.F.
76	BACILLUS ALVEI	D.F.
17	BACILLUS ALVEI BACILLUS SPP.	TLAXCALA
79	BACILLUS LARVAE STREPTOCOCCUS FAECIUM	TLAXCALA
81	BACILLUS LARVAE	XOCHIMILCO D.F.
84	BACILLUS APIARIUS	XOCHIMICLO D.F.
88	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	XOCHIMILCO D.F.
92	BACILLUS APIARTUS	MORELOS
94	BACILLUS LARVAE BACILLUS SPP.	MORELOS
95	BACILLUS LATEROSPORUS	MORELOS
97	BACILLUS LARVAE	MORELOS
100	BACILLUS LARVAE	MORELOS
	· ·	· ·

RESULTADOS: CUADRO No. 2

MUESTRAS DE MIEL A PARTIR DE LAS CUALES NO SE OBTUVO CRECIMIENTO

No. DE MUESTRA	PROCEDENCIA	GERMENES AISLADOS	No. DE MUESTRA	PROCEDENCIA	GERMENES AISLADOS
1	VERACRUZ		48	Moncine	111001003
3	VERACRUZ		49	MORELOS MORELOS	-
4	VERACRUZ	-	51		~
5	VERACRUZ	-	56	XOCHIMILCO D.F.	•.
6	VERACRUZ		57	XOCHIMILCO D.F.	•
7	VERACRUZ		58	XOCHIMILCO D.F.	•
9	VERACRUZ	_	59	XOCHIMILCO D.F.	
10	VERACRUZ		60	NOCHIMILCO D.F.	•
11	OAXACA	_	62	HIDALGO	•
12	DAXACA	_	64	HIDALGO	•
17	MILPA ALTA D.F.	_	67	HIDALGO	-
18	MILPA ALTA D.F		69	HIDALGO	•
21	PUEBLA		73	HIDALGO	-
22	PUEBLA		74	CHIHUAHUA	-
2:3	PUEBLA			0.F.	•
25	PUEBLA		78	TLAXCALA	•
26	PUEBLA	-	90	XOCHINILCO D.F.	-
28	PUEBLA	•	82	XOCHIMILCO D.F.	
33	DAXACA	•	83	XOCHIMILCO D.F.	-
34	DAXACA		85	XOCHINILCO D.F.	
35	OAXACA	•	86	XOCHIMILCO D.F.	•
36	DAXACA	•	87	XOCHIMILCO D.F.	
37	DAXACA		89 .	XOCHIMILCO D.F.	
39	DAXACA	-	90	MORELOS	
40	MORELOS	-	91	MORELOS	•
41	MORELOS	-	93	MORELOS	-
43	1	-	96	MORELOS	
44	MORELOS	-	98	MORELOS	_
45	MORELOS MORELOS	~	99	MORELOS	-

RESULTADOS: CUADRO No. 3

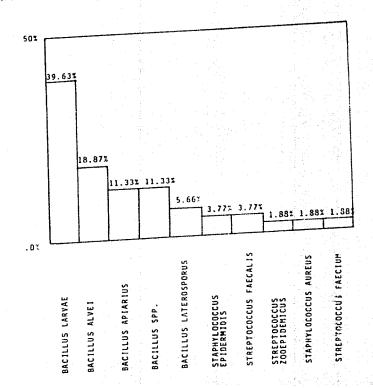
NUMERO DE VECES Y PORCENTAJES DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS A PARTIR DE 100 MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA.

GERHENES AISLADOS	No. DE VECES	PORCENTAJE
BACILLUS LARVAE	21	39.632
BACILLUS ALVEI	10	18.87%
BACILLUS APIARIUS	6	11.33%
BACILLUS LATEROSPORUS	3	5.66%
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	2	3.775
STREPTOCOCCUS FAECALIS	2	3.77%
STREPTOCOCCUS ZODEPIDEMICUS.	e this effect of the control of the	1.885
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	1	1.88%
STREPTOCOCCUS FAECIUM	i	1.88%
BACILLUS SPP.	6	11.33%

53

GRAFICA No. 1

PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS A PARTIR DE 100 MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA



Los resultados obtenidos en el presente trabajo, corresponden a lo reportado por diferentes autores (1.7.8,9) en el sentido de que la miel de abeja, tiene un efecto - bactericida sobre algunos tipos de bacterias ya que en 57 de las 190 muestras trabajadas no se obtuvo crecimiento - y solo en 7 ocasiones fue posible aislar bacterias no - esporuladas, de las cuales solamente una de ellas podría tener un efecto enteropatogeno, siendo esta <u>Staphylococcus aureus</u>. En este caso no llegó a determinarse si éste - - microorganismo fuera capaz de producir enterotoxina, la cual podría ser la responsable en un momento dado de - - intoxicación por el consumo de la miel de abeja.

Ademas el poco número de colonias que se desarrollaron en los medios de cultivo, nos hace suponer que tiene poca importancia desde el punto de vista de Salud Pública.

Lo que tambien concuerda con lo reportado por los diferentes investigadores (1,2,7,8,9), es que en la miel, es posible encontrar microorganismos en estado esporulado y por esta característica sean capaces de resistir el efecto bactericida de la miel.

Consideramos de vital importancia, el hecho de - haber aislado con cierta frecuencia y procedente de - - diferentes partes de la República, los agentes etiológicos, tanto de la Loque Americana, como los del complejo - - bacteriano que estan involucrados en la Loque Europea. En el primer caso se aisló en 21 ocasiones <u>Bacillus larvae</u>, lo que corresponde al 39.63% de los microorganismos aislados, las - muestras de miel provinieron de los diferentes lugares de la República Mexicana, tales como Puebla, Veracruz, Oaxaca, - Milpa Alta D.F., Hidalgo, Tlaxcala, Xochimilco D.F., Chihuahua, Lago de Guadalupe D.F. y Morelos, lo que puede se indicativo

de la posible distribución de esta enfermedad en las abejas.

En el 2°caso también fue posible aislar dos tipos de gérmenes, como son el <u>Bacillus alvei</u> y el <u>Streptococcus faecalis</u>, los cuales han sido descritos por algunos autores (12) como posibles agentes etiológicos dentro del llamado comlejo bacteriano de la Loque Europea. El <u>Streptococcus faecalis</u> y el <u>Bacillus alvei</u> fuéron aislados en 2 y 10 - ocasiones respectivamente, sin que en ninguna de hayan - encontrado los dos tipos de gérmenes en la misma muestra.

La procedencia de estas muestras en donde fue posible aislar a éstos gérmenes fueron Oaxaca, Milpa Alta D.F., Hidalgo, Chihuahua, Lago de Guadalupe D.F., Cuautla Mor. ,Tlaxcala y Morelos.

En este caso no fué posible aislar <u>Staphylococcus</u> <u>pluton</u> y <u>Bacterium</u> <u>eurydice</u>, los cuales, de acuerdo a - diferentes autores (12) son gérmenes que se encontraron frecuentemente involucrados en esta enfermedad.

En virtud de los resultados obtenidos en el presente trabajo, y despues de haber analizado 100 muestras de miel procedentes de diferentes lugares de la República Mexicana, se considera que es necesario hacer un estudio mas - - - exhaustivo para determinar con mayor exactitud la posible - distribución de estas enfermedades, y de esta manera - - determinar sobre hechos reales, las pérdidas económicas - que éstas ocasionan a la apicultura Nacional.

V- CONCLUSIONES

- 1º Los germenes aislados fueron <u>Bacillus alvei</u>, <u>Bacillus</u>

 <u>larvae</u>, <u>Bacillus apiarius</u>, <u>Bacillus laterosporus</u>,
 <u>Bacillus Spp.</u>, <u>Streptococcus faecalis</u>, <u>Streptococcus zooepidémicus</u>, <u>Streptococcus faecium</u>, <u>Staphylococcus aureus</u> y <u>Staphylococcus epidermidis</u>.
- 2º Ninguno de los microorganismos aislados, se consideró como posible agente etiológico de padecimientos gastrointestinales para el hombre.
- 3º El <u>Bacillus</u> <u>larvae</u> agente etiológico de la Loque Americana se demostro estar presente en los estados de Veracruz, Oaxaca, D.F., Morelos, Chihuahua, Tlaxcala, Hidalgo, y Puebla.
- 4º Se aislaron gérmenes que estan involucarados en el complejo bacteriano de la Loque Europea, siendo estos Bacillus alvei y Streptococcus faecalis.
- 5º <u>Bacillus alvei</u> se aisió de muestras provenientes de los estados de Oaxaca, Tlaxcala, Morelos, Chihuahua, Hidalgo y D.F.
- 6: Streptococcus faecalis se aisló de muestras provenientes del D.F.
- 7º Bacillus larvae fué la bacteria mas frecuentemente - aislada

VI. - BIBLIOGRAFIA.

- Casaubon Huguenin J.A. Comercialización e ----Industrialización de la miel de abeja. Tesis México 1969. F.M.V.Z.
- Cowan & Steel. Manual of Identification of Medical Bacterias. Cambridge University Press 1966.
- Dirección General de Avicultura y Especies meno res (informe).
- Langstroth L. La Abeja y la Colmena. Ed. ----Gustavo Gili 1950.
- 6.- Lelo de Larrea y Rodríguez C. Contribución al estudio analítico y comparativo de las mieles comerciales de abeja y plantas para su trata--miento. Tesis 1961. F.M.Y.Z.
- 7.- Root A.I. y Root E.R. ABC y XYZ De La Apicultura. Libreria Hatchette - Argentina 1950.
- 8.- Secretaria de Industria y Comercio Departamen to de Estadística (informe).
- 9.- The Bee World Journal 1940.
- 10.- White The Hive and The Honey Bee, Ed. Dadant-U.S.A. - 1975.
- 11.- White The Hive and the Honey Bee. R. Grout -- U.S.A. 1963.
- 12.- Zozaya J.A. La apicultura y la sanidad de las abejas en México. Memorias V - Reunión Anual de Sanidad Animal - 1976.