

102 ejm



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES CUAUTITLÁN

ESTUDIO EPIZOOTIOLÓGICO DE UN BROTE DE
BRUCELLA ovis EN MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

EDMUNDO PEREZ DURAN

Asesores: M.V.Z. Ph.D. RICARDO FLORES CASTRO

M.V.Z. ALBERTO DE LA HIGUERA JIMENEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
Antecedentes	3
Características de la <u>B. ovis</u>	4
Propiedades Antigénicas de las Brucelas	6
Enfermedad producida por <u>B. ovis</u>	7
Patogenia	8
Alteraciones patológicas	9
Aspectos epizootiológicos	10
Importancia en Salud Pública	11
Diagnóstico	12
OBJETIVOS	14
MATERIALES Y METODOS	15
Animales	15
Examen Clínico	15
Colección de Muestras	15
Aglutinación de Placa	16
Aglutinación en Placa con ME	16
Inmunodifusión	17
RESULTADOS	18
DISCUSION	24
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFIA	27

RESUMEN:

La brucelosis ovina causada por Brucella ovis (B. ovis) es una enfermedad que afecta principalmente los órganos genitales de los ovinos machos. Esta enfermedad se encuentra diseminada en diferentes países ovejeros.

El estudio de esta Tesis fue el confirmar mediante estudios de laboratorio el diagnóstico previo de un brote de epididimitis causa por B. ovis en un rebaño de borregos importados de los Estados Unidos, localizados en Coroneo, Gto, y evaluar las características epizootiológicas del mismo. Se intentó evaluar las pruebas serológicas de Aglutinación en placa, prueba de Aglutinación en placa con 2-Mercaptoetanol (ME), prueba de Inmunodifusión (ID). Esta última se considero como procedimiento estandar.

Se analizaron clínicamente 11 sementales de un rebaño donde se aisló la bacteria (rebaño A) y 26 sementales de 4 rebaños donde no se tenían antecedentes de la infección (rebaño B); encontrandose que 18 animales de ambos grupos, presentaron las manifestaciones clínicas características de la epididimitis causada por B. ovis.

En uno de los animales del rebaño A, se confirmó la presencia de B. ovis, por medio de estudios bacteriológicos y posteriormente con hallazgos histopatológicos.

En base a estos hallazgos se procedió a la recolección de 422 sueros de borregos de los rebaños en cuestión. Estos sueros fueron sometidos a las pruebas serológicas anteriormente

mencionadas.

Los resultados señalaron que de 167 sueros estudiados en el rebaño A, por la prueba de ID identificaron 129 reactores positivos (77.2%), en contraste con 145 reactores (86.8%) a la prueba de aglutinación en placa y 101 (69.4%) mediante la aglutinación de sueros tratados con ME.

En los rebaños agrupados como B, se muestrearon 255 animales, de los cuales 80 resultaron positivos a ID (31.3%) en comparación con la prueba de aglutinación en placa que registró 201 sueros positivos (78.8%) y la de placa con ME que presentó 118 sueros positivos (46.2%). En el texto se discuten las correlaciones entre las pruebas.

INTRODUCCION:

Antecedentes:

Las infecciones causadas por las diferentes especies del género Brucella se encuentran ampliamente distribuidos en -- nuestro país afectando a la mayoría de las especies domésticas -- susceptibles, e incluso al hombre (3,18,41). Las especies de -- Brucella más frecuentemente identificadas en México son: Bruce -- lia abortus (B. abortus) que se encuentra afectando aproxima -- mente el 15% de nuestra población bovina y B. melitensis que -- afecta en forma severa a las especies caprina y ovina, la cual -- además representa la etiología principal de brucelosis humana en -- el país (15). La brucelosis causada por B. suis, ha sido diagnos -- ticada desde hace varios años en México, pero en menor proporción -- describiendo el aislamiento de B. canis en perros callejeros del -- D.F. (19); la información existente al respecto señala altos por -- centajes de prevalencia de esta infección (20).

Durante muchos años se intentó demostrar la posible -- presencia de B. ovis en diferentes poblaciones ovinas de México, -- sin embargo solamente se lograron obtener datos referentes a la -- existencia de animales con anticuerpos que reaccionaron con el -- antígeno de B. ovis, pero en ninguno de los casos se observaron

signos clínicos, ni fue posible el aislamiento del germen lo que sugiere que dichas reacciones fueron heteroespecificas (40).

En un estudio reciente realizado como preámbulo de esta Tesis, en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuaras, se logró el aislamiento e identificación de B. ovis, a partir del epidídimo y testículo, de un borrego del Municipio de Coconero Gto. Al parecer este correspondió al primer aislamiento de B. ovis en la República Mexicana (37).

Características de la B. ovis:

La B. ovis al igual que las otras especies del género se caracterizan por presentar una forma cocobacilar, con medidas que varían de 0.1 a 0.5 μ m por 0.3 a 1.5 μ m; son negativos a la tinción de gram; aeróbicos, sin movimiento, y carecen de la facultad de formar esporas. Si bien utilizan carbohidratos, su crecimiento no produce ácido o gas en cantidades ópticamente aparentes (2).

En el cuadro 1 se presentan algunas características de este microorganismo en comparación con otras especies del género Brucella. Una de las características primordiales de B. ovis es que hasta la fecha no se ha encontrado la presencia de colonias en fase lisa, aislándose únicamente en formas rugosas o mucoides (32).

El cultivo invitro de B. ovis requiere la adición de -

C U A D R O 1

Características de B. ovis en comparación con otras especies del género *).

<u>Especies</u>	No. de Biotipos	Requerimiento de CO ₂	Producción de H ₂ S	Crecimiento en Presencia de - Thionina			Fucsina		Susceptibilidad al - fago T _b		Aglutinación por sueros - monoespecíficos		
				10 ^a)	20	50	10	20	DRP ^{c)}	10 ⁴ x DRP	A	M	R
<u>B. ovis</u>	1	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
<u>B. abortus</u>	9	+ (-)b)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<u>B. suis</u>	5	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<u>B. melitensis</u>	3	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
<u>B. canis</u>	1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
<u>B. neotomae</u>	1	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

A) Suero monovalente antiabortus. M.- Suero monovalente antimelitensis. R.- Suero monovalente antibrucelas rugosas.

a) Microgramos de colorante, por mililitro de medio.

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

c) DRP, Significa dosis de rutina para prueba.

* Según Meyer, M.E.; Brucellosis (Nonzoonotic infections): CRC, Handbook Series in Zoonosis. J. H. Steele, Ed., 1st Edition, CRC Press, 1979; pp 217-223.

suelo o sangre al medio de cultivo. Cuando se sospecha que las muestras destinadas al cultivo de B. ovis se encuentran contaminadas con otros agentes es recomendable recurrir al medio de -- Thayer-Martin modificado, de acuerdo a lo descrito por Brown y Col. en 1971, (8).

Las colonias se hacen aparentes en la superficie de -- los medios de cultivo a las 48 o 72 Hs. de incubación, siendo -- éstas sumamente pequeñas y incoloras.

Propiedades Antigénicas de las Brucelas:

Wilson y Miles (33,43), demostraron la presencia de -- dos antígenos en la superficie de las brucelas de pared lisa -- (S), los cuales son componentes lipopolisacáridos mezclados con cantidades variables de polipéptido, que poseen características endotóxicas similares a las endotoxinas de las enterobacterias (4,29,30).

El fragmento lípido es responsable de la toxicidad, el polipéptido parece ser esencial en la inducción de hipersensibilidad retardada en animales sensibles, mientras que el componente polisacárido posee la mayor actividad antigénica siendo responsable de la especificidad serológica (26).

En cuanto a la relación antigénica entre especies rugosas (R), y lisas de Brucella, se sabe que las copas rugosas -- no poseen la endotoxina de tipo lipopolisacárido, que está asociada con la actividad aglutinogénica de las colonias lisas --

(16). También se ha demostrado que las colonias rugosas de Brucella poseen características antigénicas similares entre sí, pero distintas a las cepas lisas (16,36).

Algunos investigadores (23), demostraron la presencia de un antígeno, conteniendo polisacáridos, en la superficie de brucelas rugosas, el cual forma líneas de precipitación solamente con sueros obtenidos después de la inmunización con brucelas en forma (R), pero no precipita con sueros preparados con brucelas en forma (S). Esto demuestra que el antígeno de brucelas (R), es común para brucelas en forma rugosa, sin embargo, se conocen además cepas que poseen determinantes antigénicos especie específicos en el antígeno (R), (36).

Actualmente se ha demostrado que los antígenos extraídos de la pared celular de cepas rugosas como B. canis producen una reacción que sugiere efecto endotóxico al inyectarse en perros y por vía subcutánea (21).

Enfermedad producida por B. ovis:

La infección en borregos producida por B. ovis da como resultado infertilidad y en casos avanzados esterilidad. Algunos estudios indican una morbilidad del 10 al 25% en borregos del Oeste de Estados Unidos (31). La infección se hace aparente principalmente en los carneros en los que produce epididimitis y orquitis, las cuales pueden ser uni o bilaterales y se manifiesta

por aumento de volumen del contenido escrotal; en las borregas se produce placentitis, fallas en la ovulación y concepción, muerte embrionaria y reabsorción; puede ocurrir también mortalidad peri y posnatal (6,25,28). La enfermedad en los rebaños se caracteriza por la notoria reducción de la fertilidad.

Patogenia:

Este gérmen se elimina en los carneros por medio del semen, principalmente en sementales con epididimitis y orquitis; puede excretarse también en la orina. En las ovejas la bacteria es eliminada a través de placenta, descargas vaginales, leche y fetos abortados (38). El microorganismo puede encontrarse en las descargas vaginales de ovejas infectadas, hasta diez días después del parto.

En los fetos y en corderos muertos después de nacer la mayor concentración de bacterias está en estómago, pulmón y bazo (7).

El carnero, con o sin lesiones, transmite directamente la infección a través de la monta y el semen a hembras sanas o por contacto prepucial o rectal a otro carnero, e indirectamente a través de una oveja (9). La infección ocurre frecuentemente por vía oral, siguiendo en importancia la vía conjuntival y los genitales externos, así como por soluciones de continuidad por vía cutánea (38).

Después de penetrar por cualquier vía la B. ovis, pasa a ganglios linfáticos regionales y posteriormente pasa a sangre produciendo una bacteremia y finalmente se localiza en el epidídimo en los machos y en la placenta en las hembras.

Alteraciones Patológicas:

En aproximadamente el 90% de los órganos genitales - - afectados macroscópicamente se produce la inflamación de la cola del epidídimo, en donde se localiza la bacteria produciendo edema perivascular e infiltración linfocitaria. Esto afecta también a los vasos adyacentes del epitelio tubular que en consecuencia se tornan adomatosos y permiten la infiltración de células mononucleares inflamatorias. Posteriormente aparecen los neutrófilos en el exudado; en este momento ocurre hiperplasia papilar y degeneración hidrópica focal, con formación de quistes intraepiteliales, del mismo modo se produce fibroplasia y cicatrización en el tejido intersticial previamente adomatoso. Esto provoca obstrucción de la luz y produce estasis en su contenido y así las lesiones se desarrollan lentamente durante meses, en los cuales una gran cantidad de microorganismos se eliminan por el eyaculado. - La evolución sucesiva de las lesiones depende de la extravasación del esperma. Esto sucede cuando el epitelio se destruye con neutrófilos infiltrantes y también con atrofia y ruptura de tubos. El granuloma espermático resultante se parece mucho a un - -

absceso, y la cola del órgano puede estar aumentada de 4 a 5 veces en su tamaño normal. Cuando el esperma extravasado penetra en la cavidad de la túnica vaginal provoca graves inflamaciones que motivan adherencias densas de dicha túnica. No hay orquitis primaria.

La degeneración testicular secundaria con éstasis en los túbulos seminíferos conduce a menudo a la calcificación, granulomas espermáticos intratesticulares microscópicos y fibrosis (27,3134). En los últimos años, se ha discutido la verdadera participación de B. ovis en el proceso de epididimitis, existiendo publicaciones que demuestran el desarrollo de un proceso de autoinmunidad en ovinos infectados con B. ovis (39); un mecanismo similar se ha descrito en perros naturalmente infectados con B. canis (10).

Aspectos Epizootiológicos:

Los animales más susceptibles a la infección por B. ovis son los carneros jóvenes que son usados por primera vez para la reproducción; ya que los carnerillos usualmente se mantienen libres hasta que se ponen en contacto con carneros adultos infectados. Esto se comprobó en un estudio realizado en un rebaño infectado empleando la Técnica de fijación de complemento -- (CF), con lo cual se obtuvo el 34.5% de reactores positivos en el grupo de animales mayores de un año, en cambio los carneros menores de un año solo dieron reacciones positivas en el 2%. Se

ha observado que la incidencia de la infección por B.ovis se incrementa proporcionalmente con la edad (34).

La epididimitis causada por B.ovis podría confundirse con aquellas causadas por diferentes especies de Actinobacillus (5,14), sin embargo en esta última se observa una gran incidencia en carneritos, cosa que no ocurre con B.ovis.

En lo referente a susceptibilidad de razas, en Australia se realizaron estudios que sugerían que los carneros de raza Merino podrían ser resistentes a la infección por B.ovis (42), pero estudios posteriores demostraron que éstos son tan susceptibles como otras razas. Al parecer el tipo de explotación tiene relación con la incidencia de la infección, siendo más elevada en los rebaños que tienen los carneros en forma es tabulada que en aquellos en que los carneros están a campo abierto.

Importancia en Salud Pública:

En la actualidad se han publicado pocos artículos -- referentes a la infección por B.ovis en humanos; en Rusia se -- publicó un artículo que reveló que 8.3% de pastores, habitantes de la población de Kazakhstan presentaban títulos de anticuerpos fijadores de complemento; el mismo artículo señala que el 6.2% de los empleados de las explotaciones ovinas en esa zona resultaron positivos a la misma prueba (23). Por su parte -- Alton y Col. en 1974, señalaron que la B.ovis no representa -- ningún riesgo en salud pública (1).

Diagnóstico:

El diagnóstico clínico debe de ser confirmado mediante la ayuda de un laboratorio, con el fin de descartar otras posibles causas de epididimitis, orquitis e infertilidad en ovinos. El uso de estudios serológicos es de gran valor para identificar B. ovis. Entre las pruebas que se utilizan, las que se han descrito con mayor frecuencia son: fijación de complemento, inmunodifusión en Agar-gel, inhibición de la hemaglutinación, inhibición de la aglutinación e intradermorreacción.

Las pruebas de fijación de complemento (FC) e inmunodifusión (13,35,36), son las más comunes; la primera de ellas se ha utilizado extensivamente en los países ovejeros, sin embargo tiene los inconvenientes de requerir personal altamente entrenado, material, reactivos y equipo adecuado; además la realización de esta prueba es complicada, siendo necesario el uso de numerosos controles. En contraste con ella, la inmunodifusión es sumamente sencilla, requiere poco material y equipo, no necesita experiencia previa para su realización e interpretación y además es sumamente económica. En el capítulo correspondiente a material y métodos, se describen los procedimientos para cada una de estas pruebas.

Myers y Col., (36) realizaron un estudio con sueros de carneros artificialmente infectados con B. ovis, con el objeto de comparar la especificidad de FC e ID encontrando que existe una considerable correlación entre ambas y que éstas identifican fundamentalmente inmuno globulinas de la clase I g G.

En años recientes investigadores de la Universidad de Cornell, en un intento por desarrollar un método rápido para el diagnóstico de brucelosis causada por B. canis en perros, lograron la producción de un antígeno para prueba de aglutinación en placa, consistente en una suspensión de B. ovis inactivada por calor y teñida con rosa de bengala (24). Al parecer esta prueba es altamente sensible para identificar anticuerpos antiBrucella canis en sueros de perros (22), sin embargo se desconoce la capacidad que este método pudiera tener para identificar anticuerpos contra B. ovis, en sueros de borregos. La sencillez con que la prueba de aglutinación en placas se realiza con este antígeno representaría un método de gran valor para el diagnóstico de epididimitis ovina.

Algunos investigadores con el fin de incrementar la especificidad de la aglutinación en placa para el diagnóstico de B. canis sugieren el tratamiento de los sueros con una solución .01 molar de mercapto-etanol, la cual tampoco se ha aplicado en el diagnóstico de epididimitis ovina causada por B. ovis, motivo por el cual se incluyeron estas técnicas en la presente Tesis.

OBJETIVOS:

El diagnóstico reciente de B.ovis en un rebaño del Municipio de Coroneo, Gto., crea la necesidad de investigar diversos aspectos epizootiológicos de este padecimiento. El presente trabajo tiene como finalidad el conocer la prevalencia de la infección en el rebaño en el que se diagnosticó el problema, así como determinar la posible presencia de rebaños infectados en la región y en el Estado de Hidalgo, donde la ganadería ovina se encuentra en pleno desarrollo.

Un segundo objetivo de esta Tesis es el evaluar la efectividad de las pruebas de aglutinación en placa y mercaptoetanol en placa, en comparación con inmunodifusión, para el diagnóstico de la brucelosis causada por B.ovis.

MATERIALES Y METODOS:

1.- Animales.- Se incluyeron en este trabajo 422 ovinos de diferentes orígenes, los cuales se clasificaron como sigue:

- A) Rebaños en Coroneo, Gto., en donde se diagnosticó epididimitis ovina mediante el aislamiento de B. ovis. Se examinaron clínicamente 11 sementales y 156 hembras de la raza Suffolk que fueron importados de Estados Unidos.
- B) Rebaños donde no se tenían antecedentes de la presencia de B. ovis, localizados en los estados de Hidalgo y Guanajuato. En estos se colectaron 255 sueros, de ovinos pertenecientes a cuatro ranchos diferentes, en los cuales predominaba la raza Suffolk, entre estos se encontraban 134 machos y 121 hembras.

2.- Examen Clínico: Se realizó un análisis sobre la eficiencia reproductiva de los rebaños en estudio, a continuación se procedió a hacer un examen minucioso sobre los órganos sexuales de los sementales mediante la palpación.

3.- Colección de Muestras: A cada uno de los animales en estudio se les colectó aproximadamente 10 a 15 ml. de sangre, con el objeto de obtener suero; éste se utilizó en los estudios serológicos que se describen a continuación:

a) Aglutinación en placa: Se realizó empleando los antígenos y procedimientos recomendados por Carmichael (11), los cuales consisten en lo siguiente: El antígeno es elaborado a partir de una cepa de B. ovis* teñida con rosa de bengala e inactivada con acetona, en una placa de vidrio se colocan volúmenes iguales (0.03 ml) de suero y de antígeno, estos se mezclan y se mantiene la placa en agitación, mediante movimientos de rotación durante tres minutos a temperatura ambiente. A continuación se hace la lectura con la ayuda de una luz indirecta, con un fondo negro. Los resultados se interpretan como positivos o negativos, considerando positivos aquellos sueros que al combinarse con el antígeno causan la aglutinación del mismo, con la formación de grumos fácilmente distinguibles a simple vista; mientras que los sueros que forman una suspensión homogénea al combinarse con el antígeno, aún después de la incubación, se registran como negativos.

b) Prueba de aglutinación en placa con Mercapto-etanol: Con el fin de reducir reacciones inespecíficas se implementó una prueba mediante la cual -

* El antígeno de placa fue amablemente proporcionado por el Dr. L.E. Carmichael del James A. Baker Institute For Animal Health, de la Universidad de Cornell.

el suero problema se pone en contacto con una solución .01 molar de 2-Mercapto etanol en proporción de 1:1; esta mezcla se deja incubar durante 10 minutos y se colecta 0.03 ml. de la misma para realizar una aglutinación en forma similar a la descrita en el inciso anterior. La interpretación se realiza en forma similar a la prueba de aglutinación en placa (inciso a).

- c) Prueba de Inmunodifusión: Para la realización de esta prueba fue necesario preparar antígeno soluble de B. ovis, para lo cual se empleó el método recomendado por Díaz y Bosseray (17), que se describe a continuación:

Se inocularon con un cultivo de B. ovis, cepa -- 1182; treinta botellas de Roux que contenían medio de tripticasa soya agar con suero de bovino y se incubaron durante 4 días a 37°C. en una atmósfera enriquecida con 10% de CO₂. Después de la incubación el crecimiento se cosechó y se lavó en dos ocasiones con solución salina fosfata da tamponada (PBS); al término del segundo lavado la suspensión bacteriana se centrifugó a -- 12,000 R.P.M. durante 15 minutos y el líquido sobrenadante se empleó como antígeno de prueba, --

* La cepa 1182 de B. ovis fue proporcionada por el Departamento de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Wisconsin.

después de una titulación previa con sueros de título conocido.

- d) La prueba de Inmunodifusión se realizó empleando - unas laminillas de plástico desarrolladas para este fin (Immuno Plates, Hyland), en los que se colocó un gel de agarosa al 0.8% conteniendo una solución tampón de borato al 3.5% pH 7.2 (2). Con un molde se realizaron perforaciones en el gel consistentes en un patrón de 6 orificios homogéneamente esparcidos entre sí con un diámetro interno de 4 mm, existiendo además un orificio central de 6 mm de diámetro interno. El antígeno soluble se colocó en el orificio central mientras que en los orificios periféricos se colocaron alícuotas de los sueros (20 microlitros). En cada serie de pruebas se incluyó un suero positivo y uno negativo como controles. La prueba se incubó a temperatura ambiente en una cámara húmeda. La lectura se realizó a las 24 y 48 Hs. de incubación. La interpretación se hizo considerando positivos a todos los sueros que presentaron una o más bandas de precipitación que se fusionara en la correspondiente al suero positivo conocido.

RESULTADOS:

- a) Análisis sobre la eficiencia reproductiva del Roba

no infectado con B. ovis: Se encontró que el sistema de cruzamiento que se empleaba en esta explotación no fue controlado, no se cuenta con un período de empadre definido. Se dejaban 5 sementales -- con cada 100 ovejas durante toda la época de cría. Se procedió a investigar el número de corderos nacidos, encontrándose que en el último ciclo, de -- 100 ovejas empadradas nacieron 93 corderitos.

En los otros rebaños incluidos en el estudio, se carece de registros, por lo que no se logró obtener información sobre eficiencia reproductiva.

- b) Resultados del Examen Clínico: Se realizó el examen clínico de los sementales existentes en los rebaños.

En el rebaño infectado de Coroneo, se contaba con ovinos de la raza Suffolk importados de los Estados Unidos. Se encontró que de 11 sementales existentes en el rebaño, nueve de ellos presentaban -- lesiones sugestivas de epididimitis y orquitis. A uno de estos se le realizó una orquiectomía para -- realizar cultivos bacteriológicos y estudios histopatológicos estas se hicieron de acuerdo a técnicas descritas en la literatura (2,13). Estos estudios confirmaron la presencia de B. ovis mediante el aislamiento del agente.

Las lesiones observadas durante el examen clínico

fueron los siguientes: inflamación de la cola del epidídimo; orquitis uni o bilateral, en algunos animales había atrofia y calcificación testicular con adherencias de la túnica vaginal, lo que se confirmó en el borrego castrado. En el estudio histológico de las muestras de este último se encontró edema perivascular e infiltración linfocitaria en el epidídimo, apareciendo células mononucleares inflamatorias y neutrófilos en el exudado, ocurriendo formación de quistes intraepiteliales. Posteriormente se encontró extravasación del esperma con la ruptura de los túbulos seminíferos del testículo, observándose además inflamaciones que ocasionan la obstrucción de estos. Se identificó la presencia de focos de calcificación y formación de tejido fibroso. En estas muestras se aisló B. ovis. En otro rebaño del Municipio de Coroneo, se encontró un semental, también de raza Suffolk, importado con lesiones similares a las descritas anteriormente.

En dos de los rebaños del Estado de Hidalgo se encontraron animales con signos clínicos sugestivos de la enfermedad. En uno de estos ranchos, 4 de los 18 sementales presentaban las alteraciones características, mientras que en el otro, 4 de los 8 sementales estaban afectados.

Los estudios serológicos produjeron resultados positivos en los sueros de estos animales con las tres pruebas empleadas.

No fué posible obtener muestras para estudios bacteriológicos.

- c) Resultados del Examen Serológico: En el cuadro II se describen los resultados de las pruebas practicadas en sueros de 167 ovinos procedentes de los rebaños donde se había confirmado la infección mediante el aislamiento. La prueba de 1D identificó 129 reactores positivos (77.2%), en contraste con 145 reactores (86.8%) a la prueba de aglutinación en placa y 101 sueros positivos (60.4%) mediante la aglutinación con ME. Este cuadro presenta la correlación entre 1D y las pruebas de aglutinación. En el cuadro III se presentan los resultados obtenidos con 255 sueros de borregos, procedentes de rebaños de los Estados de Guanajuato e Hidalgo, en los que se desconoce la existencia de la B. ovis. En la prueba de 1D, se encontró que 80 sueros (31.3%) presentaron reacción positiva, mientras que en los 175 restantes (68.6%) fueron negativos. En contraste, la prueba de aglutinación en placa registró 201 sueros positivos (78.8%) y la de placa con ME, 118 sueros positivos (46.2%). En el mismo cuadro se muestran las correlaciones entre 1D y cada una de las pruebas de aglutinación en placa.

CUADRO II

RESULTADOS OBTENIDOS EN 167 SUEROS DE BORREGOS DEL REBANO A)
INFECTADO CON B. OVIS*.

PRUEBAS DE	INMUNODIFUSION				TOTAL	
	POSITIVOS		NEGATIVOS			
	NUMERO	%	NUMERO	%		
AGLUTINACION		129	77.2	38	22.7	129/167 (77.2 Positivos a ID)
						38/167 (22.7 Negativos a ID)
PLACA	POSITIVOS	119	92.4	26	68.4	145/167 (86.8)
	NEGATIVOS	10	7.7	12	31.5	22/167 (13.1)
MERCAPTO ETANOL	POSITIVOS	82	63.5	19	50.0	101/167 (60.4)
	NEGATIVOS	47	36.4	19	50.0	66/167 (39.5)

* En este rancho del Municipio de Coroneo, Gto., se practica
ron exámenes bacteriológicos y se aisló la bacteria.

CUADRO III

RESULTADOS OBTENIDOS EN 255 SUROS DE BORREGOS DEL REBAÑO D)*.

PRUEBA DE AGLUTINACION	INMUNODIFUSION				TOTAL	%
	POSITIVOS		NEGATIVOS			
	NUMERO	%	NUMERO	%		
	80	31.4	175	68.6	80/255	(31.4 Positivos a ID)
					175/255	(68.6 Negativos a ID)
PLACA	POSITIVOS	70	87.5	131	74.9	201/255 (78.8)
	NEGATIVOS	10	12.5	44	25.1	54/255 (21.2)
MERCAPTO ETANOL	POSITIVOS	47	58.8	71	40.6	118/255 (46.3)
	NEGATIVOS	23	28.8	104	59.4	127/255 (49.8)

* En estos ranchos de los Estados de Hidalgo y Guanajuato, no se practicaron exámenes bacteriológicos.

DISCUSION:

Se realizaron estudios clínicos y serológicos de dos diferentes tipos de rebaños (Cuadro II y III). En el examen clínico se palparon los genitales externos de 11 sementales del rebaño donde se aisló la bacteria y de 26 sementales de los rebaños donde no se tenían antecedentes de la enfermedad, encontrando se animales con lesiones características de la infección producida por B.ovis, de acuerdo a lo descrito en la literatura (27,31, 34,37), de igual manera se analizó la eficiencia reproductiva del mismo grupo de animales, encontrándose un 93 % de corderitos nacidos. Dado que el manejo que se lleva a efecto en los otros rebaños estudiados carece de registros adecuados, fué imposible evaluar el efecto de la infección por B.ovis sobre la eficiencia reproductiva de los mismos.

En lo que respecta a las pruebas serológicas en este trabajo se consideró a la inmunodifusión como prueba base de diagnóstico tomando en cuenta lo descrito en la literatura en la relación a la similitud de los resultados que esta prueba ofrece en comparación con la de Fijación de Complemento (35,36). Es importante señalar que el porcentaje de animales reactores a esta prueba fué superior, como era de esperarse, en los sueros procedentes de los rebaños donde se confirmó la infección mediante el aislamiento. Por otra parte tomando en cuenta el grado de confiabilidad de esta prueba es alarmante que el 31.3% (80 de 255) de

los borregos procedentes de los rebaños sin antecedentes de la infección por B. ovis, reaccionaron en forma positiva a esta prueba, lo que crea la necesidad de brindar una mayor atención al estudio de esta infección en los diferentes rebaños del país.

Los resultados de la prueba en placa muestran una elevada proporción de reacciones positivas, observándose que aproximadamente el 74 % de los sueros, de ambos grupos de animales, reaccionaron en forma positiva a esta prueba, resultaron negativos a la prueba de ID. Resultados similares se han demostrado con el uso de esta técnica para el diagnóstico de B. canica (22).

Al tratar los sueros con ME se redujo considerablemente el número de reactores falsos positivos, sin embargo persistió una notable diferencia entre los animales reactores en esta prueba y aquellos que resultaron positivos a la ID. Al parecer el empleo de un antígeno particulado, elaborado a partir de bacterias rugosas completas, presenta una amplia gama de determinantes antigénicos, que pudieran reaccionar en forma inespecífica con otros géneros bacterianos en fase rugosa, o bien pueden ser susceptibles de autoaglutinar bajo ciertas condiciones de pH (20).

CONCLUSIONES:

1.- La prueba de ID en gel empleando antígeno soluble - extraído de una suspensión de B. ovis permitió identificar 77.2% (129 de 167) ovinos con anticuerpos contra B. ovis, en un rebaño en el cuál se demostró la presencia de esta enfermedad; igualmente se demostraron anticuerpos en 31.37% (80 de 255) borregos orecedentes de rebaños sin antecedentes de la infección por B. ovis, lo que sugiere que la brucelosis ovina se encuentra presente en dichos rebaños.

2.- El aislamiento de B. ovis en un rebaño confirma el hallazgo previo de la infección en borregos Suffolk importados - de los Estados Unidos.

3.- Las pruebas de aglutinación en placa con y sin M E, utilizando antígeno elaborado con una cepa de B. ovis, producen resultados que no concuerdan con los obtenidos por las pruebas - de I D, ya que producen un número elevado de reactores falsos -- positivos, por lo que no se recomienda para el diagnóstico de la enfermedad en cuestión.

4.- Se recomienda el establecimiento de la prueba de - I D o bien Fijación de Complemento, para el diagnóstico de rutina de la infección producida por B. ovis en rebaños del país, pa - ra evitar que ésta continúe diseminándose.

5.- Deben realizarse pruebas serológicas al introducir ovinos al país.

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

- 1.- Alton, G.G., and GulaseWharam, J. (1974): Brucellosis as a -
human health Hazard in Australia. Aust. Vet. J. 50: 209-215.
- 2.- Alton, G.G, Jones, L.M, and Pietz, D.E. Laboratory Techniques
in Brucellosis. 2nd edition, WHO, Geneva, (1975).
- 3.- Anderson, W.A., and Davis C.L. (1957): Nodular Splenitis in -
swine associated with brucellosis J. Am. Vet. Med. assoc. - -
131:141-144.
- 4.- Baker, P.J. and Wilson, J.B. (1965): Chemical Composition and
biological properties of the endotoxins of Brucella abortus.
J. Bacteriol. 90:895-902.
- 5.- Baynes, I.D. and Simmons, G.C. (1960): Ovine epididymitis - -
caused by Actinobacillus seminis, N. sp., Aust. Vet. J., - -
36:454-459.
- 6.- Biberstein, E.L., Mc Gowan, B., Olander, H. and Kennedy, P.C.
(1963): Epididymitis in Rams: Studies on Pathogenesis. Cor -
nell Vet., 54:27-41.
- 7.- Biberstein, E.L., Kennedy, P.C., Robinson, E.A. and Mc Gowan, -
-B. (1966): Epididymitis of rams. Antibody in newborn lambs.
Cornell. Vet., 56:54-66.
- 8.- Brown, G.M., C.R. Ranger and D.J. Kelley. (1971): Selective -
media for the isolation of Brucella ovis. Cornell, Vet. - - -
61:265-280.

- 9.- Brown, G.M., Pietz, D.E., and Price, D.A. (1973): Studies on the transmission of Brucella ovis infection in rams. Cornell Vet. 63:29-40.
- 10- Carmichael, L.E. y George, L.W. (1976): Canine brucellosis: Neiver Knowledge International Symp. on Brucellosis (II) - - Rabat, 1975, in: Developments in biological Standarisation, Vol. 31, S. Karger, Basil. pp. 237-241.
- 11- Carmichael, L.E.: (1978). Canine brucellosis: Isolation, - - diagnosis, transmission. Proc. U.S. Livestock Sanitary Assoc. 71:517-527.
- 12- Carrillo Cardenas S. (1957): Un caso de Infección humana por B. suis. Rev. Médica Hosp. Gral., México, 20:8.
- 13- Culling, C.F.A: Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques. 3ra, ed. Butterworths, London (1974).
- 14- De Long, W.J. and Waldhalm, D.G. (1979). Bacterial Isolates Associated with Epididymitis in Rams from Idaho and Eastern Oregon Flocks. Am. J. Vet. Res. 40(1): 101-102.
- 15- Del Rfo V.A: (1978). Campaña contra la Brucellosis en México: Antecedentes y Estrategias. Memorias del Foro Nacional sobre Brucelosis, INIP-ENEP, México, D.F. Dic. 1978:84-106.
- 16- Díaz, R., Jones, L.M., and Wilson, J.B. (1968). Antigenic re

lation Ship of the gram-negative organism causing canine - - abortion to Smooth and rough Brucellas. J. Bacteriol. 95:618--624.

- 17- Diaz R. and Bosserey N. (1973). Identification d'un composé antigénique spécifique de la phase rugueuse (R) des brucella. Ann. Rech. Vet., 4:283-292.
- 18- Escarzaga, E: Brucelosis; (1978). Algunos aspectos de la infección en humanos. Memorias del Foro Nacional sobre Brucelosis, INIP=ENEP, México, D.F. 1978: 47-59.
- 19- Flores C.R, y Segura L.R: (1976) A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in México. Cornell Vet. 66:347-352.
- 20- Flores C.R, Suarez G.F, Ramirez Pfeiffer, C. and Carmichael, L.E: (1977). Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in México - - City. J. Clin. Microbiol. 6:591-597.
- 21- Flores Castro R., (1978).: Canine Brucellosis: Analysis of - methods for diagnosis and Treatment. Tesis doctoral. Universidad de Cornell. Ithaca, N.Y.
- 22- Flores, C.R. and Carmichael L.E. (1978): Canine Brucellosis. Current status of methods for diagnosis, Cornell Vet, 68(7: 76-88).

- 23- Gaunilov, P.P., Bzhevskaya, A.N., Rementsova, M.N., Usmanova, F.I., and Postricheva, O.V. (1972): Epidemiology of - - disease caused by B. ovis, Veterinariya, (Moscow), 7,55.
- 24- George L.W. y Carmichael L.E. (1974): A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis, Am. J. Vet. Res., 35, 905.
- 25- Hughes, K.L., (1972). Experimental Brucella ovis Infection in ewes. Aust. Vet, J. 48:12-17.
- 26- Jones, L.M., and Berman, T.D. (1976): Studies of brucella - lipopolysaccharids. Internat, Symp. on Brucellosis (II) - - Rabat 1975, in: Develop. Biol. Standards, 31 Karger-Basel pp 62-67.
- 27- Jubb, K. VF and Kennedy, P.C.: Pathology of domestic animals 2nd. ed. Academic Press, Vol. 1, New York, P. 463 (1970).
- 28- Laws, L, Simmons, B, and Ludford, C.G. (1972). Experimental Brucella ovis infection in Rams. Aust. Vet. J. 48:313-317.
- 29- Leong, D., Díaz, R., and Wilson, J.B. (1968). Identification of the toxic component of B. abortus endotoxin and its - - - labling with radioactive chromate. J. Bacteriol. 95:612-617.
- 30- Leong, D., Díaz, R., Milner, K., Rudbach, J. and Wilson, J. B. (1970): Some structural and biological proprieties of - - Brucella endotoxin. Infec. Immun., 1:174-182.

- 31- Mc Gowan, B. and G. Shultz. (1956). Epididymitis of rams: -
Clinical description and field aspects. Cornell Vet. 46:277.
- 32- Meyer, M.E.: Brucellosis (Nonzoonotic-infections): CRC, - -
Handbook Series in Zoonosis. J.H. Steele, ED., 1st. Edition,
CRC Press, 1979; pp 217-223.
- 33- Miles, A.A. 1939. The antigenic Surface of Smooth Brucella -
abortus and Brucella melitensis. Brit. J. Exp. Path., 20:63-
82.
- 34- Murray, R.M., (1969). Scrotal Abnormalities in Rams in tropi-
cal Queensland with particular reference to ovine Brucello-
sis and its control. Aust. Vet, J. 45:63-67.
- 35- Myers, M.D. and Siniuk A.A. (1970). Preliminary Report on the
Development of a Diffusion-in-Gel Method for the diagnosis -
the epididymitis. Appl. Microb. (1962): 335-337.
- 36- Myers, D.M., Jones, L.M. and Varela-Díaz, V.M. (1972). Stu-
dies of antigens for complement fixation and gel diffusion -
test in the diagnosis of infections caused by Brucella ovis
and other Brucellae. Appl. Microbiol., 23:894-902.
- 37- Pérez D.E, Trigo T.F, De la Higuera, J.J, y Flores C. R: ---
Diagnóstico y descripción de un brote de epididimitis ovina
en México originado por B. ovis. (Enviado para su publicación
a la Rev. Veterinaria México, D.F.)

- 38- Rodríguez, H.G: (1978). Epizootiología de la Brucelosis. Memorias del Foro Nacional sobre Brucelosis, INIP-ENEP, México, D.F.; Dic. 1978; 10-39.
- 39- Shott, L. y Young, S. (1971): Autoimmunity in the pathogenesis of infectious ovine epididymitis. *Corneill Vet.*, 61:281--296.
- 40- Suarez G.V, Flores C.R y Martínez Y. E: (1974). Presencia de anticuerpos de B. ovis en borregos Pelibuey. Resúmenes de la XI Reunión Anual de INIP. México, D.F.
- 41- Suarez G.F, Flores C.R.: (1978). Brucelosis en diferentes especies animales. Memorias del Foro Nacional sobre Brucelosis, INIP-ENEP, México, D.F.: Dic. 1978; 40-46.
- 42- Watt, D.A., (1970). Investigations of ovine Brucellosis in Merino Rams of Wester Australia. *Aust. Vet. J.* 46:506-515.
- 43- Wilson, G.S., and Miles, A.A. 1932. The serological differentiation of Smooth strains of Brucella grup. *Brit. J. Exp. Path.*, 13:1-13.



ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES CUAUTITLÁN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MVZ/LEAS/ED-149-CIV.80 N

SRA. MARTHA OBREGON DE LOS RIOS
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la UNAM
P r e s e n t e .

La Dirección de esta Escuela Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlán autoriza profesional
de MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA a presentar su examen
"ESTUDIO EPIZOOTIOLÓGICO DE UN BENTE DE N."
Cuya Examinanda titulada:

..... para lo cual se le ha asignado
el siguiente jurado:

PRESIDENTE

DR. CARLOS PISOANI AGUADE.

VOCAL

DR. RICARDO FLORES CASTRO.

SECRETARIO

DR. GILBERTO OCHOA URIBE.

1er. SUPLENTE

DR. JOSE DE LUCAS TRON.

2º SUPLENTE

ING. SANTOS IGNACIO ARBIZA A.

A t e n t a m e n t e ,
"POR MI RAZA HABLARA" el 2 de Mayo de 1960.
Cuautitlán Izcalli, Mex.

EL DIRECTOR

Ing. Manuel Viejo Zubizaray.