



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**IDENTIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL DAÑO CAUSADO POR *Brucella*
ovis EN EL APARATO REPRODUCTOR DEL CARNERO**

TESIS

QUE PRESENTA:

JUAN ANTONIO JIMÉNEZ MARTÍNEZ

PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

MC. VÍCTOR MANUEL SÁNCHEZ PARRA

CO-ASESOR

C.MC. ADRIÁN SÁNCHEZ OROZCO

MORELIA, MICHOACAN, ABRIL DEL 2018.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**IDENTIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL DAÑO CAUSADO POR *Brucella*
ovis EN EL APARATO REPRODUCTOR DEL CARNERO**

TESIS

QUE PRESENTA:

JUAN ANTONIO JIMÉNEZ MARTÍNEZ

PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

MC. VICTOR MANUEL SÁNCHEZ PARRA

CO-ASESOR

MVZ. ADRIAN SÁNCHEZ OROZCO

MORELIA, MICHOACAN, ABRIL DEL 2018.

Dedicatorias

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme llenado con un poco de sabiduría, inteligencia, consejo, fortaleza, ciencia, piedad y temor de Dios, para poder sobrellevar los retos que surgen día a día.

A mis padres Cecilia y Juan Antonio

Por enseñarme con su ejemplo a persistir, resistir y nunca desistir ante los retos que la vida nos pone a diario, practicando la paciencia, poniéndole amor a lo que haces para que todo salga mejor.

A mi hermano Luis Enrique

Por enseñarme que por dura que sea la vida uno nunca debe perder la alegría de vivir, ya que esta es la fuerza que te permite conquistar cualquier objetivo en la vida.

A mis abuelos y familia

Por enseñarme que los conocimientos se hicieron para hacer el bien a los demás, no para presumirlos sino para ignorar menos.

A mis profesores

Por haber compartido un poco de sus conocimientos y experiencias para enriquecer mi formación como profesionista.

A mis asesores M.C. Víctor Manuel Sánchez Parra y M.V.Z. Adrián Sánchez Orozco.

Por enseñarme humildad para aprender, respeto para con los demás y disciplina para lograr cada objetivo que me proponga.

Agradezco a los amigos y compañeros de facultad

Porque de todos me llevo una gran lección de vida, además de su amistad y su respeto.

Por último, agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por haberme permitido ingresar a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde no solo adquirí conocimientos sino también experiencias vitales para mi formación como persona y profesionista.

ÍNDICE

	Página
Introducción -----	1
Justificación -----	3
Etiología -----	4
Distribución geográfica -----	5
Transmisión de <i>Brucella ovis</i> -----	6
Periodo de incubación -----	7
Signos clínicos -----	7
Epidemiología -----	8
Salud pública -----	9
Patogenia de la <i>B. ovis</i> -----	9
Hallazgos histopatológicos -----	13
Diagnostico -----	14
Control de <i>B. ovis</i> -----	16
Materiales y métodos -----	18
Resultados y discusión -----	19
Conclusiones -----	28
Anexo A -----	29
Bibliografía-----	31

RESUMEN

La epididimitis que afecta a los carneros, es causada por el microorganismo, *Brucella ovis* (*B. ovis*) descrita por Mc-Farlane en 1952. La infección causada por *B. ovis* es una enfermedad de transmisión sexual, que afecta a los carneros. El objetivo de este trabajo fue evaluar el grado de lesión causado por *B. ovis*, en los órganos que conforman el aparato reproductor del carnero, mediante el proceso histopatológico, se utilizó la tinción de hematoxilina y eosina para la evaluación de las lesiones, se concluye que la presencia de *B. ovis* causa lesiones en el aparato reproductivo de los carneros y afecta la eficiencia reproductiva del rebaño, el uso de la histopatología en el diagnóstico de *B. ovis* permite conocer más respecto al comportamiento de la infección causada. Para el control de la Brucelosis ovina se recomienda realizar una castración en aquellos carneros que muestren una marcada epididimitis, para su posterior análisis en el laboratorio, según lo recomendado por lo establecido por la NOM-041-ZOO-1995, además de emplear el proceso histopatológico antes mencionado, ya que esta es una prueba irrefutable de la presencia de *B. ovis* en el rebaño.

Palabras clave: infertilidad, ovinos, *Brucella ovis*, histopatología, enfermedad.

ABSTRACT

The epididymitis is an infection that affects the rams, it is caused by *Brucella ovis* (*B. ovis*) described by Mc-Farlane in 1952. The infection caused by *B. ovis* is a venereal transmitted disease, which affects the rams. The objective of this work was to evaluate the degree of injury caused by *B. ovis*, in the ram's reproductive system, by histopathological process, hematoxylin and eosin stain was used to evaluate the lesions, it is concluded that the presence of *B. ovis* causes lesions in the reproductive system of rams and affects the reproductive efficiency of the flock, the use of histopathology in the diagnosis of *B. ovis* allows to know more about the behavior of the ovine brucellosis. For the control of the ovine brucellosis it is recommended to carry out a castration in those rams that show epididymitis, for its later analysis in the laboratory, as recommended by the established by the NOM-041-ZOO-1995, besides using the process histopathological aforementioned, since this is irrefutable proof of the presence of *B. ovis* in the flock.

Key words: infertility, sheep, *Brucella ovis*, histopathology, disease.

Introducción

La *Brucella ovis* (*B. Ovis*) fue descrita por primera vez por Mc-Farlane en 1952 en Nueva Zelanda, en un brote presente en carneros afectados por epididimitis y de ovejas que abortaron, un microorganismo, que inoculado experimentalmente por vía intravenosa determinaba la aparición de lesiones genitales (López, 2007). En 1953 la enfermedad fue observada simultáneamente por Simmons y Hall en Australia y por Budle y Boyes en Nueva Zelanda. A partir de estos hallazgos la infección ha sido descrita en: Checoslovaquia, Sudáfrica, Rumania, Francia, España, Bulgaria, Hungría, Portugal y Rusia (López, 2007; Vega *et al*, 2008).

En el continente americano fue notificada por vez primera en Estados Unidos en 1956, posteriormente en Perú en 1961; Argentina, 1962; Uruguay, 1966; Chile, 1968; Brasil, México y Canadá reportaron la presencia de *B. Ovis* en 1984 (López, 2007). Por su parte Paolicchi (1989), describe a *B. Ovis*, como una enfermedad crónica de distribución mundial, que causa importantes pérdidas económicas en los sistemas de producción ovina.

La brucelosis ovina causa problemas reproductivos asociados con infertilidad de carneros, y causa importantes pérdidas económicas en los sistemas de producción ovina, por tanto, el efecto de deterioro en la reproducción es considerable; la actividad del carnero puede representar aproximadamente el 80% del cambio genético que ocurre en el rebaño, por lo que cualquier falla en el proceso reproductivo puede resultar en una drástica disminución de la eficiencia reproductiva de las ovejas servidas, los efectos directos en las hembras afectadas, son: abortos, pérdidas embrionarias y nacimientos de corderos débiles (Quispe *et al*, 2002).

Por otro lado, los carneros afectados por *B. ovis*, presentan diferentes grados de infertilidad la cual es irreversible, por ende, la fertilidad y productividad del rebaño se ve afectada (Paolicchi *et al*, 1991; López, 2007; Carvalho, 2011).

En México de acuerdo con las estadísticas del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (SIAP, 2012) en los reportes de 2003 al 2012, muestran un incremento en la población ovina, así, los estados con mayor número de inventario de ganado ovino son el Estado de México, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Veracruz y Zacatecas, por lo cual la presencia de una patología que merme la producción ganadera, afectara a la situación económica de dichos estados en dicha actividad ganadera.

Justificación

La epididimitis infecciosa del carnero, es una infección venérea causada por *B. ovis*, es una patología importante cuya presencia en el ganado ovino causa problemas de infertilidad de los carneros, lo que afecta directamente la viabilidad económica del rebaño, por otro lado la infección causada por *B. ovis*, causa el acortamiento de vida de los carneros afectados, por otro lado, la brucelosis en ovejas puede causar el aumento en la mortalidad perinatal, así como nacimientos de corderos débiles, cabe mencionar que los rebaños afectados pueden mostrar una disminución de los rendimientos de carne y lana, además de las restricciones en el comercio que el problema conlleva.

Los estudios de daños histopatológicos causados por *B. ovis* permiten conocer más de la patogenia de la enfermedad, además permiten mostrar el grado de lesión de los órganos que conforman el aparato reproductor del carnero.

B. ovis tiende a causar una marcada epididimitis en los carneros, sin embargo, el curso de la infección puede ser sin lesiones aparentes, por ello además de la palpación, se deben realizar algunas otras pruebas para apoyar el diagnóstico, entre los que destaca el estudio histopatológico.

El diagnóstico histopatológico a diferencia del serológico, es un proceso tardado, y costoso, sin embargo, permite identificar claramente las lesiones de los tejidos y dependiendo del tipo de tinciones, se puede identificar incluso la presencia de la bacteria, lo que de manera irrefutable permite un diagnóstico veraz.

Etiología

La epididimitis ovina es causada por *B. Ovis*, cocobacilo Gram-negativo (Rovid,2009), que miden 0,5 a 0,7 micrones (μ) de ancho y entre 0,6 a 1,5 μ de longitud, son patógenos intracelulares facultativos que no esporulan, no presentan capsula, y carecen de flagelos, de fimbrias, exotoxinas, plásmidos o fagos lisogénicos, y su lipopolisacarido (LPS) posee menor actividad endotóxica que el encontrado en otras bacterias gram-negativas (López, 2007).

La temperatura optima de crecimiento de *B. Ovis* va de los 36 – 38 °C, aunque puede llegar a sobrevivir en un intervalo de 20 – 40°C (Martín, 2010). Su metabolismo es respiratorio y tiene un sistema de citocromo basado en el transporte de electrones, con oxígeno o nitrato como aceptor terminal, el pH normal de crecimiento oscila entre 6 y 7.4, mueren a pH menores de 3.5 (López, 2007).

Martín (2010) establece que *B. Ovis* posee un Lipopolisacarido (LPS) en fase rugosa (R-LPS), y por tanto, carece este LPS de la cadena O, lo cual lo hace no patógeno para el resto de los mamíferos (López, 2007), esto no impide que sean virulentas en su hospedador, en este caso los ovinos y cérvidos (Martín, 2010), porque se ha encontrado que la bacteria coloniza preferentemente el tejido del epidídimo, pero se ha asignado la importancia en la presencia de eritriol, a la anatomía de los vasos sanguíneos y a una marcada adhesividad a la superficie celular de los epitelios que poseen brucellas rugosas (Paolicchi,1989).

Distribución Geográfica

La epididimitis infecciosa de los carneros, causada por *B. ovis*, se considera una enfermedad de distribución mundial, que afecta los sistemas de producción ovina (Paolicchi, 1989., Acha *et al*, 2001).

Por su parte López (2007) menciona los serios problemas que suscitan en la economía, por la presencia de *B. ovis* en el rebaño, ya que causan una caída en la fertilidad del rebaño, además del acortamiento de vida de los carneros y por el aumento en la mortalidad perinatal en las hembras, así como en la disminución en los rendimientos de carne y lana, además de las restricciones en el comercio.

Por lo tanto, la infección por *B. ovis* causa pérdidas económicas significativas para la industria ovina debido a la falla reproductiva y el sacrificio de animales reproductores (Carvalho, 2011).

Transmisión de *Brucella ovis*

Los ovinos más sensibles a la infección por *B. ovis*, en condiciones naturales son los carneros con experiencia sexual previa, incrementándose la incidencia a medida que aumenta la edad; por otro lado se ha observado que las ovejas son más resistente a la infección, sin embargo, juegan un papel importante en la difusión de la enfermedad, además que pueden transmitirla a sus crías; hay reportes que han identificado la presencia de la bacteria hasta 11 meses después del apareamiento, (López, 2007).

El semen de carneros infectados con *B. ovis* es una importante vía de transmisión, se ha observado que la excreción de la bacteria antes mencionada es de 4 años de forma intermitente en los eyaculados, aunque no debe descartarse la eliminación por la orina (Rovid, 2009). La mayor tasa de contagio ocurre por la vía venérea pasiva durante el servicio, a través de la oveja, puesto que en condiciones naturales una misma oveja, suele ser cubierta por varios carneros, lo que facilita la diseminación de la enfermedad, siendo esta la primera vía de transmisión (López, 2007).

La segunda vía de transmisión en importancia, es la que ocurre de carnero a carnero, a través de la actividad homosexual fuera de la época de servicio, lo que es causado por que se establecen jerarquías entre los carneros, así, los carneros dominantes sodomizan con frecuencia a los sometidos, pudiendo transmitir *B. ovis* a través de la mucosa oral o rectal (Manazza *et al*, 2006). Los carneros tienden a lamer el prepucio unos a otros, y teniendo en cuenta que los animales infectados excretan millones de bacterias por el semen, el riesgo de contagio es elevado (López, 2007).

B. ovis puede ingresar por las mucosas peneana, prepucial, rectal, nasal y/u oral; por otra parte, la infección causada en ovejas apareadas con carneros infectados, sucede con menor frecuencia, en ellas la vía intravaginal es más común. Otros mecanismos de transmisión de *B. ovis* a ser considerados son, excreción del microorganismo en las descargas vaginales, y durante la lactancia, de modo que la transmisión de oveja a cordero es común que suceda (Rovid, 2009).

Periodo de incubación

B. ovis, utiliza las membranas mucosas como la vía conjuntival o prepucial, para inducir la infección en el carnero, una vez ingresada la bacteria en el animal, por cualquiera de las vías antes mencionadas, coloniza los linfonodos regionales donde se multiplica activamente, durante 60 - 70 días, posteriormente se produce una bacteriemia, para ubicarse en órganos como hígado, riñón, bazo y genitales, logrando así establecer una infección (Paolicchi, 1989). Sin embargo, estudios realizados por Carvalho (2011), sugieren que a partir del día 30 pos-infección la bacteria comienza a multiplicarse activamente.

Signos clínicos

La brucelosis ocasiona lesiones en los genitales del carnero produciendo infertilidad, las manifestaciones clínicas de mayor relevancia, son: epididimitis, disminución de la fertilidad, mala calidad del semen; en la mayoría de los casos, las lesiones en los testículos y epidídimos solo pueden detectarse por palpación; donde se detecta engrosamiento y endurecimiento de la cabeza y cuerpo y cola del epidídimo (Manazza *et al*, 2006).

Aunque se ha demostrado que el examen clínico de los testículos y epidídimos tiene poco valor diagnostico en el caso de la infección por *B. ovis*, debido a que hay animales que sufren la enfermedad, pero no presentan signos clínicos de ella y pueden infectar a otros carneros (Gutiérrez *et al*, 2015).

Epidemiologia

Como se mencionó anteriormente, la epididimitis ocasionada por *B. ovis*, invade el tracto reproductivo que resulta en una reducción en la fertilidad de los carneros, y raramente, abortos en ovejas o muertes neonatales en corderos (Paolicchi,1989; López,2007).

Un rango de animales, incluyendo bovinos, animales de laboratorio y cabras han sido infectadas experimentalmente, pero la infección natural no ha sido reportada en estas especies. La infección experimental fue reportada en Estados Unidos, pero no fue hasta 1996 en una granja de ciervos cola roja, que fue descubierta como un patógeno potencial para los ciervos (Ridler,2002).

La Brucelosis es una enfermedad de distribución mundial, cuando ingresa por vez primera a una región, la tasa de incidencia es alta (20% a 60% de carneros infectados y un 45% a 70% de rebaños afectados) pero en regiones donde es endémica la tasa de incidencia es menor, respecto a la susceptibilidad de las razas, se ha informado que la raza Merino es menos afectada que las razas inglesas y sus cruas (López, 2007).

En condiciones naturales, los animales adultos son los más sensibles a la infección pues han tenido experiencias sexuales previas, sin embargo, se han encontrado corderos con edad de cuatro meses, seropositivos a las pruebas de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) y enzima de inmunoensayo indirecta (ELISA), aunque en menor proporción que en adultos (López, 2007).

López en (2007) explica que la seropositividad en corderos puede deberse a la transmisión a partir de las ovejas, o por compartir espacios con carneros de mayor edad, donde los más jóvenes son sometidos por dominancia, por tanto, la prevalencia de la enfermedad está más relacionada con la actividad sexual que con la edad.

Salud pública

La epididimitis del carnero por *B. ovis* está ampliamente difundida. Se ha comprobado en África, Australia, Europa y Nueva Zelandia. Está presente en Brasil (Rio Grande do Sul), Chile, Estados Unidos, Perú y Uruguay, es decir todos los países del continente donde la producción ovina tiene importancia. Hasta el momento no se han reportado casos humanos por *B. ovis* (Acha, 2001; Sbriglio *et al.*, 2007).

Patogenia de la *B. ovis*

En 1920 la bacterióloga norteamericana Alice Evans comprobó la semejanza de los microorganismos aislados por Bruce, Bang y Traum, y sugirió designar el agente causal con el nombre de Brucella, en honor a Sir David Bruce. Posteriormente se siguieron descubriendo nuevas especies de Brucella, tal es el caso de *B. ovis* en carneros en 1956 (Vega *et al.*, 2008).

Estudios de hibridación de DNA-DNA determinaron que todos los miembros del genero Brucella presentan más del 95% de homología y se le considera un género mono-especifico (López, 2007), por lo cual el mecanismo de invasión hacia el hospedador es el siguiente:

Las especies de Brucella replican tanto en las células fagocíticas profesionales como no profesionales; este género de bacterias son patógenas intracelulares facultativas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos; esto justifica la naturaleza crónica de la infección, ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucarióticas (Vega *et al.*, 2008).

Eventualmente las especies de Brucella presentan características únicas en los hospederos, éstas cursan por tres fases distintas: 1.- Fase de incubación: donde los signos no son evidentes; 2.- Fase aguda: durante la cual el patógeno invade y se disemina por el huésped; 3.- Fase crónica: en la que puede ocasionar daños

severos a los órganos, e incluso, la muerte del hospedador (Figueiredo *et al*, 2015).

La infección crónica resulta de la capacidad del organismo para persistir en las células del huésped, en estos casos las Brucellas se distribuyen por vía linforreticular para causar eventualmente enfermedades cardiovasculares, hepáticas, linforreticular, neurológica y osteoarticular (Figueiredo *et al*, 2015).

La Brucella sobrevive dentro de las células porque se ha asociado su capacidad de sintetizar enzimas antioxidantes y de producir guanosina 5'-monofosfato (GMP) y adenina, las que le permiten inhibir la fusión fagosoma-lisosoma, la degranulación, la activación del sistema haluro-mielo-peroxidasa y la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Además, se sabe que las cepas rugosas de la Brucella, tales como *B. ovis*, resultan más susceptibles a la muerte intracelular, puesto que, entre 7 a 10 horas después de la invasión, el recuento de bacterias de fenotipo rugoso cae en un 99% (López, 2007).

La patogénesis de la infección causada por *B. ovis* puede ser clasificada en dos tipos básicos: 1.- patogénesis descendente o hematógena y 2.- ascendente o venérea. En los carneros, al ingresar *B. ovis* en los tejidos, independientemente de la vía de entrada es transportada a la linfa, libre o en el interior de las células fagocíticas hasta alcanzar los ganglios linfáticos regionales (López, 2007).

Si las bacterias resisten el ataque del sistema inmune, se difunden por la vía descendente (hematógena), a todo el organismo y empiezan a multiplicarse en diferentes órganos. En especial al tracto genital, hígado, bazo, pulmones, riñones y ganglios linfáticos (Sbriglio *et al*, 2007). En dichos órganos sobreviven y se multiplican dentro de vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares. Además, las Brucellas producen inflamaciones crónicas y granulomatosas en los órganos en que se encuentran (Paolicchi, 1989).

Existe un período de latencia de dos a ocho semanas antes de que aparezcan signos clínicos. Sin embargo, en condiciones experimentales *B. ovis* permanece dos o tres semanas en los ganglios linfáticos próximos al lugar de inoculación antes de que la infección se disemine por vía sanguínea. Luego de aproximadamente sesenta días post exposición *B. ovis* desaparece de los ganglios linfáticos y otros órganos, y se localiza en órganos del sistema reticuloendotelial, epidídimo, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales, ampollas de los conductos deferentes y a veces en riñón siendo la vía más importante de eliminación la seminal y la urinaria (Paolicchi, 1989; López, 2007).

En un estudio histopatológico realizado por López (2007), se obtuvo los siguientes datos mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Material necropsiado donde se aisló *B. ovis*

Material necropsiado	%
Epidídimos	63.15
Orina	58.8
Glándulas bulbouretrales	15.6
Vesículas seminales	25
Riñones	18.75
Baso	20

Estos resultados mostraron, que existe un porcentaje elevado de *B. ovis* encontrado en epidídimos y orina, lo cual indica que las vías de eliminación de brucellas, principales son la seminal y la urinaria (López, 2007, Paolicchi *et al*, 2000, Carvalho *et al*, 2012).

Se ha observado que los carneros seropositivos a *B. ovis*, excretan un alto contenido de células inflamatorias en el semen, además de que no desarrollan lesiones detectables clínicamente en un periodo luego de ser infectados, por dicho microorganismo; por otra parte, aún se desconoce la causa por la cual la bacteria tiene afinidad de colonizar el tejido epididimario, pero se ha asignado la importancia en la presencia de eritriol en dicho tejido (Paolicchi, 1989).

Sin embargo, se ha dado importancia a la anatomía de los vasos sanguíneos pues estos son la vía por la cual las brucellas rugosas llegan al testículo, además de tener en cuenta que las brucellas poseen una marcada adhesividad a la superficie celular (López, 2007).

Cuando las brucellas se liberan desde las células fagocíticas y entran en contacto con los tejidos, se provoca una respuesta serológica y celular, ocasionando que, en testículos y epidídimos, con presencia de focos necróticos, formación de granulomas espermáticos y en algunos casos presencia de células gigantes de Langerhans (Paolicchi *et al*, 1989). Por tanto, la patogenia de la *B. ovis* ocurre según lo descrito en los siguientes puntos:

1.- Se produce una exudación serofibrinosa, con un acumulo de linfocitos en áreas perivasculares y de células plasmáticas, con el desarrollo de una hiperplasia del endotelio capilar (Paolicchi, 1989; Carvalho, 2011).

2.- Posteriormente, aparecen los neutrófilos en el área donde se está produciendo la espermostasia. Así mismo en el conducto epididimario, se pueden observar células desorganizadas, vacuolización epitelial y linfocitos intraepiteliales (Paolicchi, 1989; Carvalho, 2011).

3.- Después se puede apreciar la formación de áreas hiperplásicas, donde se forman los quistes intraepiteliales, cuyo contenido son neutrófilos con bacterias en su interior (Paolicchi, 1989).

4.- Con la ruptura del túbulo epididimario, se ponen en contacto los espermatozoides con las células inflamatorias y se desencadena una respuesta antiespermática con un granuloma de sensibilización, esto debido a que los espermatozoides son considerados antígenos propios, secuestrados y aislados tempranamente durante el desarrollo de la respuesta inmune del sistema inmunológico (Paolicchi, 1989; Carvalho, 2011).

Hallazgos histopatológicos

La eficiencia reproductiva en un rebaño depende, entre otros factores del estado nutricional de los reproductores, época de servicio, peso de las hembras al llegar al estado reproductivo, y un estado sanitario óptimo. Estos aspectos cobran relevancia, una vez que en el caso del que alguna enfermedad reproductiva, puede afectar de manera considerable, los parámetros reproductivos (Paolicchi *et al*, 1991; Estein, 2006).

En países con una importante ganadería de ovinos, como es el caso de Australia y Argentina, los exámenes de tipo clínico, sobre un gran número de carneros han permitido detectar patologías hasta en el 10.7% de los animales revisados, esta cifra se incrementó al realizar exámenes post-mortem de genitales obtenidos en frigoríficos (Paolicchi *et al*, 1991), caracterizaron las principales lesiones genitales de carneros en Argentina que fueron enviados a sacrificio, siendo los órganos más afectados del sistema reproductor del carnero: los testículos, los epidídimos, las Vesículas seminales, las ampollas, tal y como lo detalla López (2007) en el estudio de brucelosis causada por *B. ovis* en ovinos, donde expresa que los principales sitios donde se llega a alojar la *B. ovis*.

Así mismo Hernández *et al* (2015) en el estudio titulado diagnóstico serológico, histopatológico y molecular de epididimitis ovina en carneros de Zacatecas, México, evaluaron los órganos a través de histopatología, reportaron infiltrados de células linfocíticas, plasmáticas y macrófagos, con excepción de la glándula bulbouretral, las lesiones en testículos y epidídimos fueron más severas en comparación con los demás órganos del aparato reproductivo, confirmando lo descrito por Paolicchi *et al* (1991).

Diagnóstico

El diagnóstico de la brucelosis ovina, comienza por el examen clínico mediante la palpación testicular y de los ganglios, cabe aclarar que la palpación testicular no es prueba suficiente para el diagnóstico de *B. ovis*, puesto que puede haber animales con la enfermedad en curso que no presenten manifestaciones de la enfermedad, los cuales actuarían como reservorios, ocasionando un grave problema al rebaño, por ello es necesario extraer semen y sangre para remitirlos a un laboratorio a un posterior análisis (Manazza *etal.*, 2006).

Tal como lo establece la Norma Oficial Mexicana, NOM-041-ZOO-1995, la Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales, el diagnóstico de la brucelosis en lo referente a ovinos, se deben realizar en los laboratorios aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) con muestras de suero sanguíneo, leche, líquidos corporales y muestras de tejidos, mediante pruebas inmunológicas, estudios bacteriológicos u otros que sean autorizados por la SAGARPA. Al realizar cualquier prueba de diagnóstico de la brucelosis o de la epididimitis ovina, el Médico Veterinario aprobado u oficial debe extender un dictamen de prueba (SAGARPA, 1996).

Así mismo según lo establece la NOM-041-ZOO-1995, se pueden realizar los siguientes tipos de diagnósticos:

- 1.- Diagnóstico clínico, realizado por palpación de los testículos, con la cual se busca la presencia de una marcada epididimitis, algunos animales afectados por *B. ovis* pueden no presentar lesiones (Manazza *et al*, 2006).
- 2.- Diagnostico bacteriológico de *B. ovis*, permite el aislamiento para determinar la presencia del microorganismo, al igual que en el aspecto clínico, no todos los carneros infectados eliminan la bacteria en el eyaculado, debido a que su liberación es intermitente, por lo cual, si se consigue aislar el agente causal de una muestra biológica, se obtiene una prueba irrefutable de que el animal está infectado (Manazza *et al*, 2006).

3.- Diagnostico serológico, consiste en detectar en sangre anticuerpos contra B. ovis, separando y analizando suero de los animales en estudio, las técnicas son utilizadas por su rapidez, economía y calidad; actualmente se recomiendan Fijación del Complemento (FC) e Inmunodifusión en gel de agar y ELISA, que son reconocidas por la OIE para el comercio de ovinos y semen. Por su parte, en México, la NOM-041-ZOO-1995, establece que para la detección de B. ovis se realizará con la prueba de Inmunodifusión doble en gel, con muestras de suero sanguíneo no hemolizado de ovinos SAGARPA (1996).

4.- Diagnóstico histopatológico, a diferencia del serológico, es un proceso tardado, costoso, pero de buena calidad, en el que se pueden identificar las lesiones de los tejidos y con otro tipo de tinciones, incluso se puede identificar la presencia de la bacteria de manera irrefutable (Lee *et al*, 1968).

Control de Brucelosis ovina

Para el control de *B. ovis* en el rebaño, se debe comenzar por realizar una exploración clínica en el aparato reproductor de los carneros, en caso de notar por medio de palpación una marcada epididimitis, se recomienda castrar a los ovinos afectados y analizar mediante un estudio histopatológico y serológico la presencia de *B. ovis*, para descartar o confirmar la presencia del proceso patológico en el rebaño (Paolicchi *etal.*,1991).

B. ovis generalmente se introduce en un rebaño por animales o semen infectados. La prevalencia de la infección puede reducirse examinando los carneros antes de la temporada de reproducción y sacrificando a los carneros con anomalías palpables. Como se mencionó anteriormente no siempre se encuentran lesiones palpables en todos los carneros infectados, y también se deben considerar las pruebas de laboratorio de carneros (Rovid,2009).

En algunos países, los carneros destetados pueden vacunarse con la vacuna *B. mellitensis* Rev-1 (Rovid,2009). Por su parte en México según la NOM-041-ZOO-1995, se establecen los criterios para el manejo de vacunas y antígenos debe realizarse bajo estrictas medidas de bioseguridad y de conservación de los biológicos, a través de una eficiente operación de la cadena fría; siendo ésta una responsabilidad compartida entre productores y tenedores de ganado, Médicos Veterinarios aprobados, empresas productoras, comercializadoras de productos biológicos y otros determinados por la Dirección SAGARPA (1996).

La vigilancia de las condiciones de aplicación y manejo del biológico, así como la notificación obligatoria de las actividades de vacunación, será responsabilidad del Médico Veterinario que lo aplica SAGARPA (1996).

El tratamiento con antibióticos se ha utilizado con éxito en algunos carneros valiosos, pero generalmente no es económicamente viable para la mayoría de los animales. La fertilidad puede permanecer baja incluso si el organismo se elimina. Las infecciones en las ovejas generalmente se previenen controlando las infecciones en los carneros (Rovid, 2009), sin embargo, en México no se hace

tratamiento de la enfermedad, por lo que establecen las campañas de erradicación (SAGARPA, 1996).

B. ovis ha sido erradicado de los rebaños de ovejas en las Islas Malvinas, así como en Nueva Zelanda mediante métodos de prueba y extracción dirigidos a los carneros o sacrificio de los reactores positivos (Rovid,2009).

Las especies de *Brucella* son eliminadas fácilmente por los desinfectantes comúnmente disponibles, incluyendo soluciones de hipoclorito, etanol al 70%, isopropanol, yodóforos, desinfectantes fenólicos, formaldehído, glutaraldehído y xileno; Sin embargo, la materia orgánica y las bajas temperaturas disminuyen la eficacia de los desinfectantes, los reportados para destruir *Brucella* en superficies contaminadas incluyen un 2.5% de hipoclorito de sodio, 2-3% de sosa cáustica, 20% de suspensión de cal recién apagada o 2% de solución de formaldehído (todos probados durante una hora) (Rovid,2009).

Así mismo se han reportado el uso de etanol, isopropanol, yodóforos, fenoles sustituidos o soluciones de hipoclorito diluidas en la piel contaminada. Los compuestos de amonio cuaternario de alquilo no se recomiendan para este propósito. El tratamiento en autoclave [calor húmedo de 121 ° C (250 ° F) durante al menos 15 minutos] se puede usar para destruir especies de *Brucella* en equipos contaminados (Rovid, 2009).

Las brucelas también pueden ser inactivados por calor seco [160-170 ° C) durante al menos 1 hora). La ebullición durante 10 minutos suele ser efectiva para líquidos. Se informa que el xileno (1 ml / litro) y la cianamida cálcica (20 kg / m³) descontaminan el estiércol líquido después de 2 a 4 semanas. Las especies de *Brucella* también pueden ser inactivadas por irradiación gamma (por ejemplo, en calostro) y pasteurización (Rovid, 2009).

Materiales y métodos

El trabajo se desarrolló en la USAD (Unidad de Servicios Auxiliares para el Diagnóstico) de la Posta Zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Ubicada en el municipio de Tarímbaro Michoacán a 9.5Km de la carretera Morelia-Zinapécuaro, localizada al norte del estado en las coordenadas 19°48' de latitud norte y 101°10' de longitud oeste, a una altura de 1960 msnm Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2010).

Las muestras para el proceso Histopatológico se tomaron al momento del sacrificio de los animales para lo que se colectarán tejidos de 2cm³ de los siguientes órganos: Epidídimo (cabeza, cuerpo y cola derechos e izquierdos), testículo izquierdo y derecho en la zona de la rete testis –medula- y de la zona cortical, glándula seminal, ámpula, uretra pélvica, glándula bulbo uretral, y ganglio linfático inguinal.

Posteriormente los órganos se colocaron en frascos de formol al 10% a excepción de los testículos que se colocarán en solución de Bouin, y se conservaron para su proceso histológico, el cual se realizó de la siguiente manera; después de haberse incluido estas en parafina y de haberse realizado los respectivos cortes en el micrótomos a 5 µm de espesor, para ser teñidos con la siguiente técnica de tinción: Hematoxilina y Eosina (Lee *et al*, 1968).

La técnica de tinción utilizada en este trabajo, fue la de Hematoxilina y Eosina (H&E), anexo A.

Resultados y Discusión

Los resultados se muestran en la Tabla 2, en la que incluyen los grados de lesión que presentan los diferentes órganos, éstas se clasificaron de acuerdo a lo expuesto por Paolicchi (1989), donde las lesiones se clasifican dependiendo del grado de afección:

* Lesión leve, es decir, con la presencia de exudación serofibrinosa, acumulo de linfocitos en áreas perivasculares y células plasmáticas en el endotelio capilar.

* * Lesión moderada, los neutrófilos aparecen en áreas donde se está produciendo la espermostasia.

* * * Lesión grave, el conducto epididimario presenta células desorganizadas, edema y vacuolización epitelial y comienzan a observarse linfocitos intraepiteliales. Algunas regiones del epitelio se degeneran y adquieren características hiperplásicas o de metaplasia escamosa, para finalmente culminar en la formación de áreas mayores papilomatosas o hiperplásicas que determinan los característicos quistes intraepiteliales que contienen neutrófilos y bacterias en su interior.

* * * * Lesión severa, se observa en el intersticio una progresiva fibrosis que complementa la distorsión tubular, además de notarse la ruptura del túbulo epididimario, con el consecuente contacto de los espermatozoides con células inflamatorias presentes en el intersticio desencadenando un granuloma de sensibilización, (Paolicchi, 1989).

Tabla 2. Lesiones histopatológicas en carneros infectados con B. ovis y grupo control en diferentes órganos del aparato reproductor del carnero.

Análisis de los órganos del aparato reproductor del canino.																
Grupo	Animal	Test. Der				Test. Izq		Epi. Derecho				Epi. Izquierdo				UP
		Gli	VS	A	Rete	Cap	Rete	Cap	GB	CD	Cud	Cld	CI	Cui	Cli	
I	37	*	*						**	***	*	***	*			
	39		*							***	***	*	*	*	*	
	44									*						*
	61													*		
	67	*											*	*		
	68	*									*	*	*	*		
II	36		**	*	*	****	**	**	*	***	***	***	***	**	***	
	38		***	**			*			*	*		**	***	**	
	45	*							*	*	**	**	**	*	**	*
	49	**	*	*		*				*	****		**	****	****	
	50		***	***						*				*		*
	56		*							**	*	*			*	
III	35													**		
	40				*	*			*	*	*	*		*	*	
	42						*						*	*	*	
	43															
	58															
	65															

*Leve, **Moderado, ***Grave, **** Severo en grado de alteración encontrada en los órganos para estudios histopatológicos. Sin cambios significativos (espacios en blanco).

Grupo I: Mucosas, Grupo II: Endovenoso, Grupo III: Control.

Tabla 3. Significado de los acrónimos de los órganos del aparato reproductor del carnero.

Acrónimo	Significado	Acrónimo	Significado
Gli	Ganglio inguinal	CD	Cabeza del epidídimo derecho
VS	Vesícula seminal	Cud	Cuerpo del epidídimo derecho
A	Ámpula	Cld	Cola del epidídimo derecho
Tcd	Test. Capsula derecha.	CI	Cabeza del epidídimo izquierdo
Trd	Test. Retetestis derecha.	Cui	Cuerpo del epidídimo izquierdo
Tci	Test. Capsula izquierda.	Cli	Cola del epidídimo izquierdo
Tri	Test. Retetestis izquierda.	UP	Uretra pélvica
GB	Glándula bulbouretral		

Con base a los resultados obtenidos en este estudio (Tabla 2) y los grados de lesión que se tomaron de acuerdo con lo expuesto por Paolicchi (1989) y López (2007), los cuales son representados en el grafico 1. Donde se llegó a los siguientes resultados:

Grafico 1. Lesiones histopatológicas en el aparato reproductor del carnero.

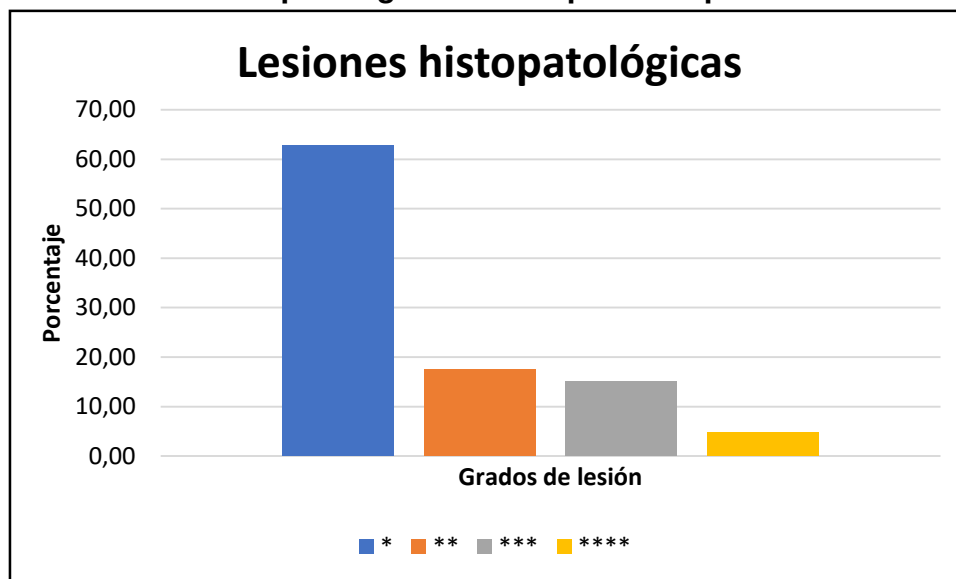


Grafico 2. Lesiones histopatológicas en el aparato reproductor del carnero Grupo I.

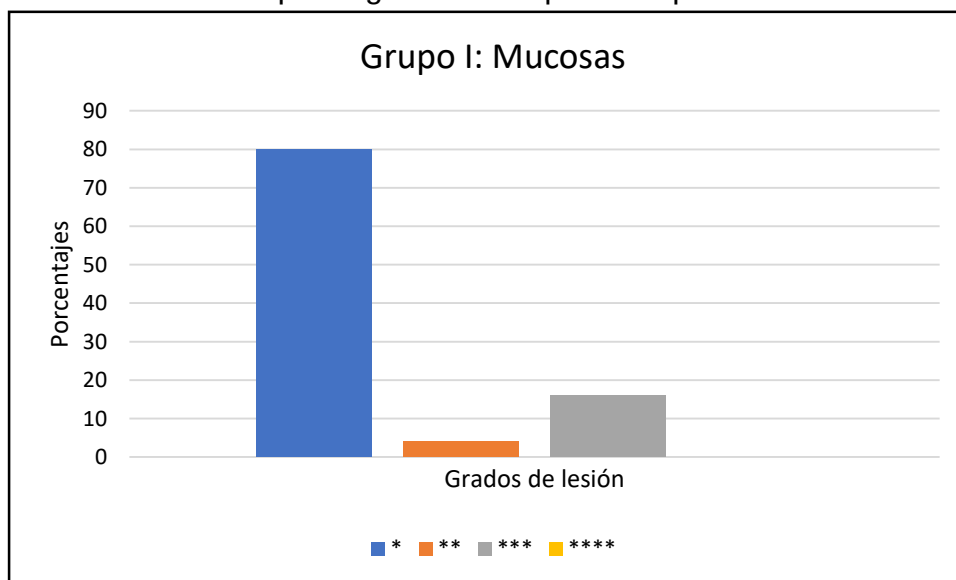


Gráfico 3. Lesiones histopatológicas del aparato reproductor del carnero Grupo II

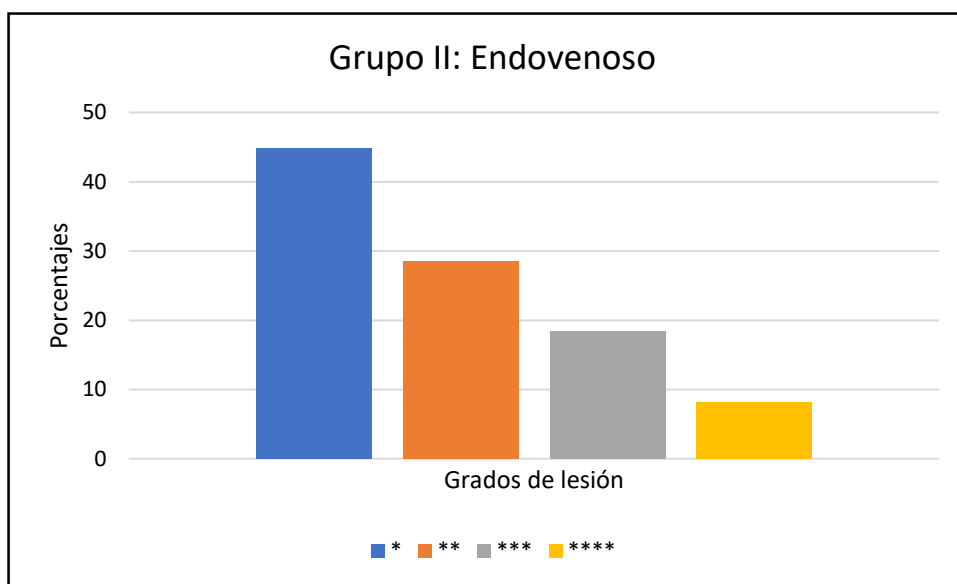
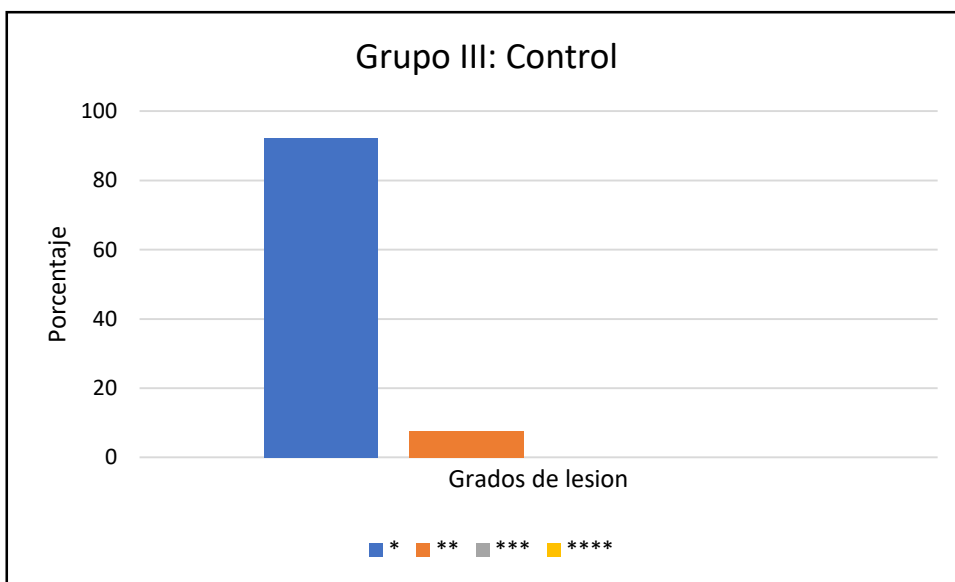


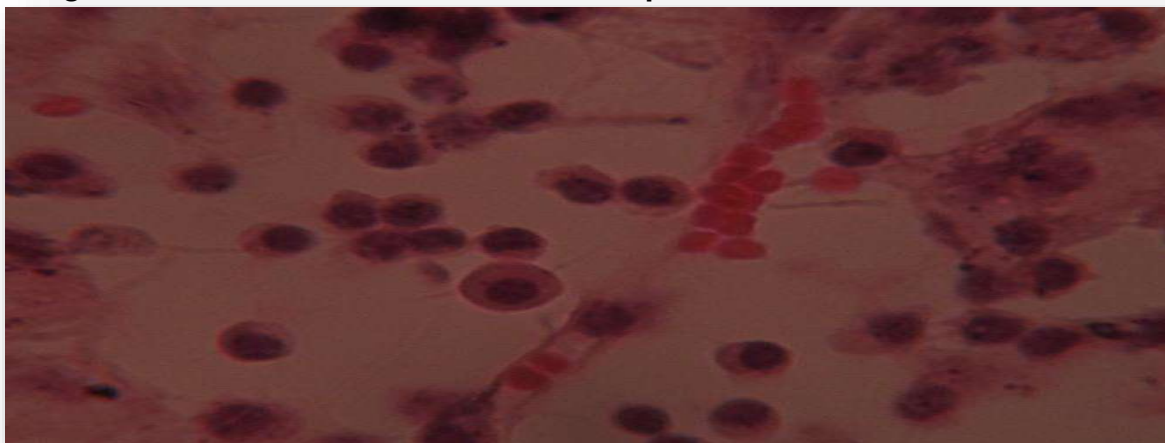
Grafico 4. Lesiones histopatológicas del aparato reproductor del carnero Grupo III



El porcentaje de las lesiones clasificadas como leves del total de los órganos estudiados(ver Gráfico 1), fue de 63%, es decir que (54/86) órganos afectados se caracterizaron por este tipo de lesión, al evaluarse el grado de lesión a nivel de grupos se obtuvo que, en el Grupo I, el 80% de las lesiones fueron leves, es decir que (20/25) órganos afectados en este grupo, fueron caracterizados con este tipo de lesión(ver Gráfico 2), en el Grupo II, el 45% de las lesiones fueron leves, es decir, que de (22/49) órganos infectados en este grupo, se caracterizaron por esta lesión (ver Gráfico 3) , por su parte en el Grupo III, el 92% de los órganos fueron afectados por lesiones leves, es decir, que de (12/13) órganos infectados, se caracterizaron por este tipo de lesión (ver Gráfico 4), el cual según Paolicchi (1989), los eventos inician por la presencia de exudación serofibrinosa, acumulo de linfocitos en áreas perivasculares y células plasmáticas en el endotelio capilar, de los órganos del aparato reproductor del carnero, (ver imagen1).

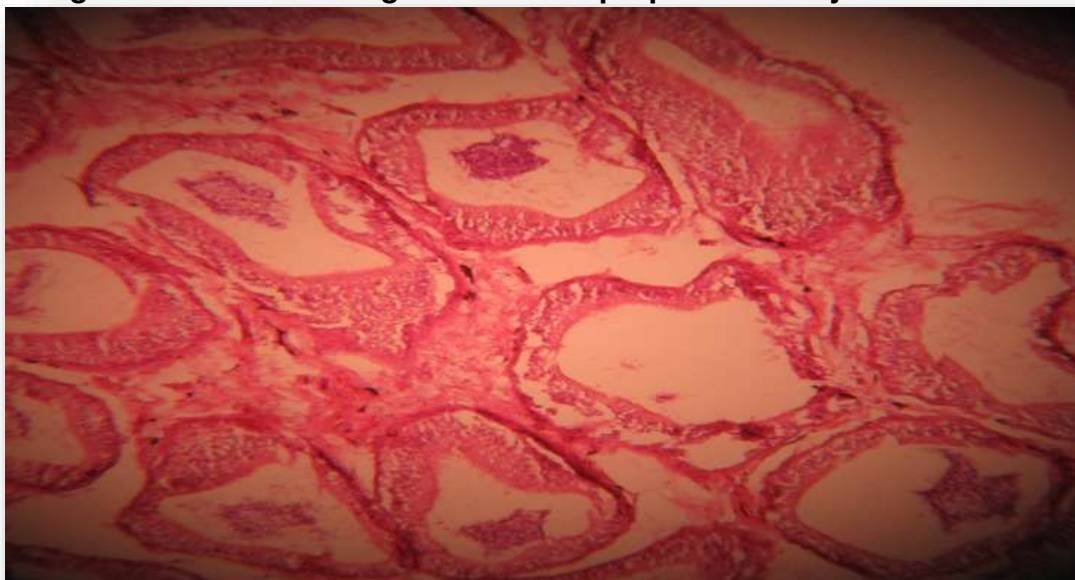
Por su parte Carvalho (2011), establece que el órgano del aparato reproductor del carnero más afectado por *B. ovis*, después de 30 días pos-infección son los epidídimos, donde se observa lo descrito anteriormente. La infección del Grupo III se debe posiblemente a que los carneros afectados por este tipo de lesión, recientemente habían contraído la infección o por contaminación de muestras al momento de la realización de las necropsias.

Imagen 1. Acumulo de linfocitos en áreas perivasculares. 100X



El porcentaje de las lesiones clasificadas como moderadas, fue de 17.44%, es decir que de los (15/86) órganos afectados por *B. ovis* se caracterizaron por este tipo de lesión (ver Gráfico 1), sin embargo, al evaluarse el grado de lesión a nivel de grupos se obtuvo que el grupo I, presentó un 4% de las lesiones que fueron clasificadas como moderadas, es decir (1/25) de los órganos afectados en este grupo, fueron caracterizados con este tipo de lesión (ver Gráfico 2) , por su parte en el grupo II, presentó un 29% de las lesiones que fueron clasificadas como moderadas, es decir (14/49) de los órganos afectados en este grupo, fueron caracterizados con este tipo de lesión (ver Gráfico 3), y en el grupo III, presentó un 8% de las lesiones que fueron clasificadas como moderadas, es decir (1/13) de los órganos afectados en este grupo se caracterizaron por este tipo de lesión (ver Gráfico 4), las cuales presentaron la presencia de neutrófilos en las áreas donde se está produciendo la espermostasia, además de tejido epididimario donde es posible observar que dicho conducto presenta células desorganizadas, edema y vacuolización epitelial, además de observarse linfocitos intraepiteliales (ver Imagen2) (Paolicchi,1989), por su parte Carvalho (2011) corrobora que todos los carneros que son infectados por *B. ovis* de forma natural o experimental tienden a desarrollar este tipo de lesiones.

Imagen 2. Células desorganizadas e hiperplasia del tejido. 10X



Posteriormente las lesiones clasificadas como graves, obtuvieron un porcentaje de 15% (ver Gráfico 1), en otras palabras, de los (13/86) órganos afectados, solo presentaron este tipo de lesión (ver imagen 3 e imagen 4). Al evaluarse el grado de lesión a nivel de grupos se obtuvo que, en el Grupo I, el 16% de las lesiones fueron graves, es decir que (4/25) órganos afectados en este grupo, fueron caracterizados con este tipo de lesión (ver Gráfico 2), en el Grupo II, el 18% de las lesiones fueron graves, es decir, que dé (9/49) órganos infectados en este grupo, se caracterizaron por esta lesión (ver Gráfico 3), por su parte en el Grupo III, no se presentaron este tipo de lesiones (ver Gráfico 4). Cuyas características de algunas regiones del epitelio epididimario presentan hiperplasia o de metaplasia escamosa, para finalmente culminar en la formación de áreas mayores papilomatosas o hiperplásicas que determinan los característicos quistes intraepiteliales que contienen neutrófilos y bacterias en su interior (Paolicchi,1989).

Imagen 3. Hiperplasia del endotelio de los epidídimos. 20X

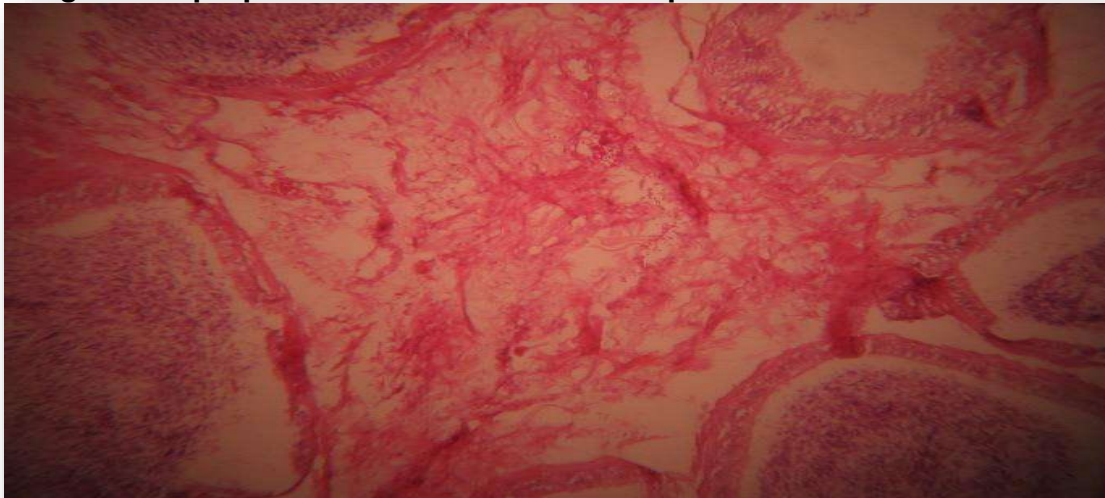
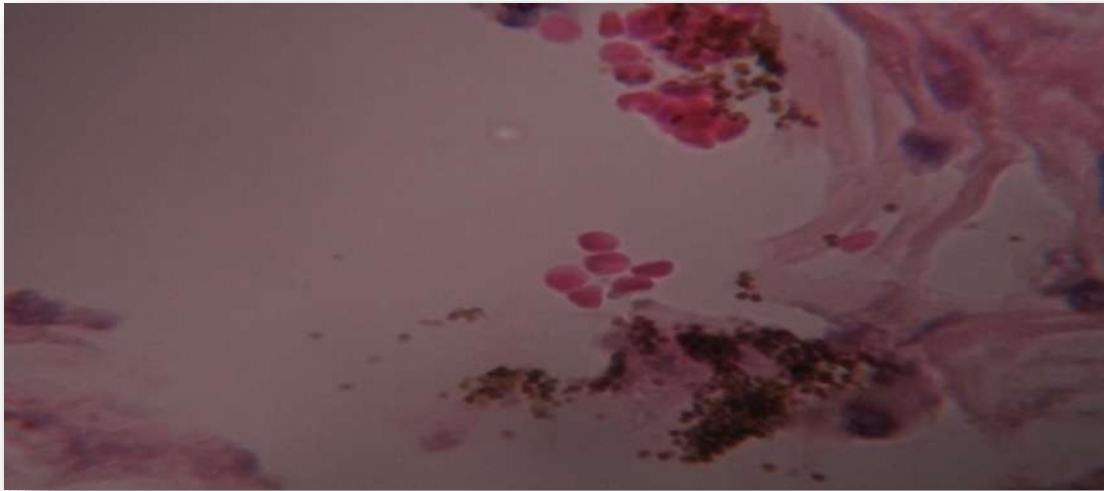


Imagen 4. Quistes intraepiteliales con bacterias en su interior. 100X



Por último, el porcentaje de las lesiones clasificadas como severas, obtuvieron un 4.65%, es decir, de los (4/86) órganos afectados, presentaron este tipo de lesión, sin embargo al evaluarse el grado de lesión a nivel de grupos se obtuvo que, en el Grupo I, no hubo presencia de lesiones severas (ver Gráfico 2), en el Grupo II, el 8% de las lesiones fueron severas, es decir, que de (4/49) órganos infectados en este grupo, se caracterizaron por esta lesión (ver Gráfico 3) , por su parte en el Grupo III, no hubo presencia de lesiones severas (ver Gráfico 4), en las lesiones severas se observa que el intersticio de los tejidos presenta una progresiva fibrosis que complementa la distorsión tubular, además de notarse la ruptura del túbulo epididimario, con el consecuente contacto de los espermatozoides con células inflamatorias presentes en el intersticio desencadenando un granuloma de sensibilización (Paolicchi *et al.*, 1989; Carvalho, 2011).

El 8% de lesiones severas que presenta el Grupo II, se debe a que en la vía endovenosa casi no se encuentran anticuerpos que las ataquen y como las brucellas no tienen capacidad de lisar eritrocitos, estas suelen utilizar el torrente sanguíneo como transporte a otros órganos en especial los genitales del carnero donde se ha notado que tiene afinidad por estas estructuras, ya que se asocia a la presencia de eritriol en esta zona, el cual les permite, multiplicarse (Paolicchi, 1989; Brooks *et al.*, 2011).

Imagen 5. Distorsión y ruptura del túbulo epididimario. 10X

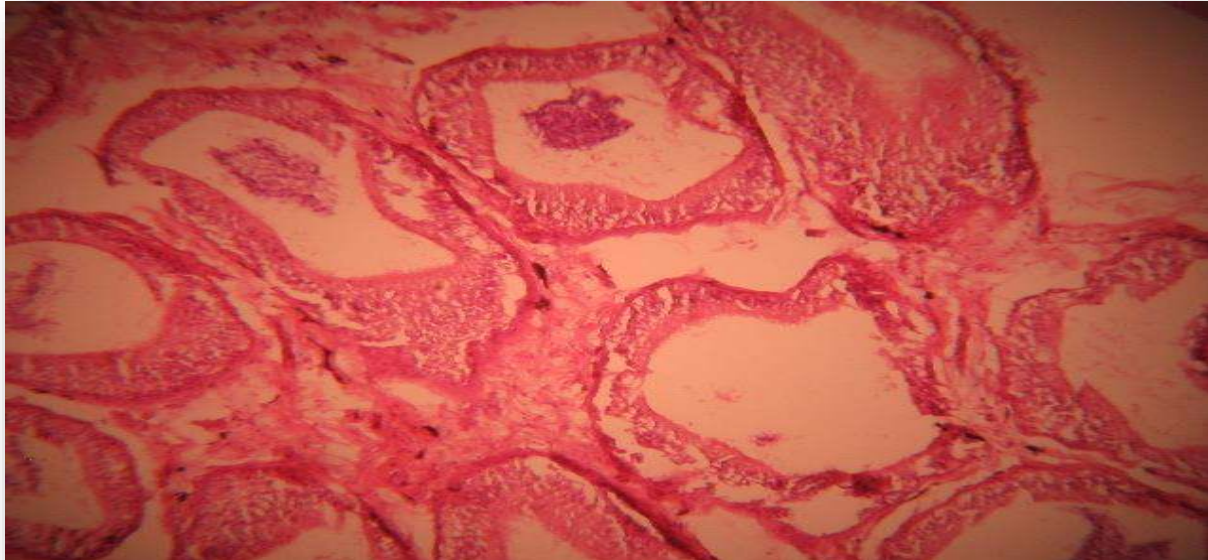
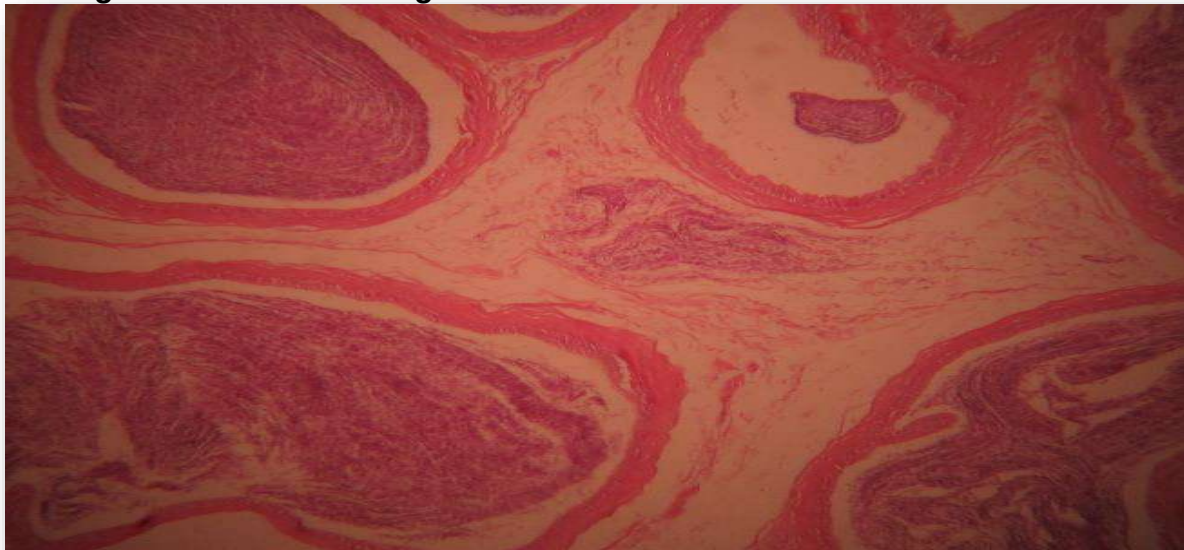


Imagen 6. Formación de granuloma de sensibilización. 10X



Conclusiones

La presencia de una patología en un rebaño ovino, como es el caso de *B. ovis* puede acarrear mermas en la eficiencia reproductiva, y por consecuencia problemas económicos para el productor ovino.

Para realizar un diagnóstico certero de *B. ovis* en carneros, se recomienda realizar una castración en aquellos corderos que presenten una marcada epididimitis, para su posterior análisis en el laboratorio, siguiendo lo establecido en la NOM-041-ZOO-1995.

No es posible diagnosticar *B. ovis* por medio de una palpación de los epidídimos, ya que otros microorganismos pueden desarrollar una epididimitis en los corderos, además cabe la posibilidad de que haya carneros infectados que no presenten tal signo y sin embargo sean positivos a *B. ovis*.

Mediante una prueba histopatológica, se pueden detectar la presencia de lesiones causadas por *B. ovis*, por medio de la tinción de Hematoxilina & Eosina, ya que esta es una prueba irrefutable, de su presencia en el rebaño.

Anexo A.

Tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E).

I.- Desparafinar las muestras 10' en la termo-platina.

Sumergir las muestras en:

1.- Xilol 1	5 minutos
2.- Xilol 2	5 minutos
3.- Xilol 3	5 minutos

II.- Secar al ambiente (en promedio 10').

Sumergir las muestras en:

1.- Alcohol absoluto	3 minutos
2.- Alcohol al 96%	3 minutos
3.- Alcohol al 80%	3 minutos
4.- Alcohol al 70%	3 minutos
5.- Alcohol al 50%	3 minutos
6.- Pasar en agua	1 minuto
7.-Hematoxilina de Harris	5 minutos (filtrar antes de usar).

8.-Lavar en agua (3 pases) las muestras, hasta que no salga color, de forma generosa y suave (Cambiar el agua en cada pase).

9.- Agua amoniacal al 1%	1 minuto
10.- Alcohol ácido *	3 a 5 pases

*Es muy importante verificar que no se decolore la muestra o sea escaso en decolorado, ya que este paso es crítico para el contraste para la eosina.

Anexo A.

11.- Alcohol al 70%	3 pases suaves
12.- Alcohol al 70%	3 minutos
13.- Eosina alcohólica	5 minutos
14.- Alcohol al 70%	3 minutos
15.- Alcohol al 80%	3 minutos
16.- Alcohol al 96%	3 minutos
17.- Alcohol absoluto	3 minutos

III.- Secar al ambiente (en promedio 10 minutos).

Sumergir las muestras en:

Xilol	5 minutos
Xilol	4 minutos

IV.- Secar al ambiente (en promedio 10 minutos).

V.- Montar la muestra con Entellan (24 h) o con resina sintética (1 semana).

VI.- Resultados de la tinción de H&E.

Hematoxilina: La hematoxilina al ser básica tiene la propiedad de teñir ácidos, de color morado o azul (núcleos con DNA o RNA).

Eosina: La eosina es un ácido y tiene la propiedad de teñir bases, de color rosado (citoplasma) (Lee *etal*,1968).

Bibliografía

Acha. P.N; Szifres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. (3° ed) Ed. OPS. Washinton, D.C.: Vol 1. p 28.

Brooks,F.G., Carroll.C.K., Butel.S.J., Morse.A.S.,Mietzner.A.T.2011. Jawetz, Melnik y Adelberg Microbiología médica (25° ed). Ed. Mc Graw Hill.México.D.F. Cap.2. p9-13.

Carvalho J.C.A.; Moustacasa. V.S.; Xaviera. M.N.; Costaa.E.A.; Costaa.L.F.; Silva. T.M.A.; PaixãobT.A.; Borgesa.A.M.; Gouveiac,A.M.G. y Santosa,R.L; Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. [en línea]. 2011. https://www.researchgate.net/publication/251605863_Andrological_pathologic_morphometric_and_ultrasonographic_findings_in_rams_experimentally_infected_with_Brucella_ovis [Consulta: 14, julio, 2017].

Estein.S.M. Brucelosis: Inmunidad y vacunación (revisión bibliográfica). [en línea]. 2006. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> [Consulta: 14, julio, 2017].

Figueiredo, P.; Fitch, A.T.; Rice-Fitch., A.; Rossetti, A. y Adams, G.L.; Pathogenesis and Immunobiology of Brucellosis Review of *Brucella*-Host Interactions [en línea]. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003> [Consulta: 14, julio, 2017].

Hernández G.L.J., Fariña G.I.G., Dibarrat A.J.P., Aparicio D.E., Gutiérrez T.V.R., Pérez T.J.L., Diagnostico serológico, histopatológico y molecular de la epididimitis ovina en carneros de Zacatecas, México. [en línea]. 2015. <https://www.researchgate.net/publication/296831197> [Consulta: 25, septiembre, 2017].

INEGI. 2010.Disponible en:

<http://www.beta.inegi.org.mx/app/mapa/denue/default.aspx>

[Consulta:03 mayo,2017].

Lee, G.; Luna, HT. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. (3° ed.) Ed. MCGRAW-HILL BOOK COMPANY. United States of America.p 38.

López, G.A. 2007. Estudio de Brucelosis causada por *Brucella ovis* en ovinos y personal en riesgo. (Tesis de Doctorado). Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ciencia Animal. Valencia, España.

Manazza, J; Spath, E y Paolicchi, F; 2006. Brucelosis ovina. Revista del Colegio de Veterinarios de la Prov. de Bs. As., 11(35): 42-44.

Martín, M. A. I. 2010. Estudio de factores implicados en la virulencia de *Brucella ovis* y *Brucella canis*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética. Salamanca, España.

Paolicchi, F.A. Epididimitis ovina por *Brucella ovis*: lesiones genitales y respuesta inmune antiespermática. [en línea] 1989.

http://www.researchgate.net/publicación/266371593_EPIDIDIMITIS_OVINA_POR_Brucella_ovis_LESIONES_GENITALES_Y_RESPUESTA_INMUNE_ANTIESPERMATICA

[Consulta: 27 junio, 2017].

Paolicchi, F.A.; Campero, C.M.; Zamora, A.S.; Cipolla, A.L. y Casaro, A.P. Lesiones anatomopatológicas en genitales de carneros enviados a faena. [en línea] 1991. <https://www.researchgate.net/publication/277816077>

[Consulta: 27 junio, 2017].

Quispe, Ch. R; Rivera, H.G y Rosadio, R.A. 2002. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 13(1): 61-66.

Ridler, A.L. 2002. Studies on Brucella ovis infection in deer. (Thesis de Doctorate). Massey University, Palmerston North, New Zealand.

Rovid, S.A. Ovine Epididymitis: Brucella ovis. [en línea] 2009.
www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis_ovis.pdf
[Consulta: 13, septiembre, 2017].

SAGRAPA. Normas Mexicanas (NMX) y Normas Oficiales Mexicanas (NOM) relacionadas con la ganadería. [en línea] 2015.
<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Paginas/Legislacion.aspx>
[Consulta: 24, octubre, 2017].

SIAP. Ovino Población ganadera. [en línea]. 2012. <http://www.gob.mx/siap>.
[Consulta: 13, septiembre, 2017].

Sbriglio, L.J.; Sbriglio H y Sainz, S. Brucelosis. [en línea]. 2007.
http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota3_13.pdf
[Consulta; 29, marzo, 2017].

Vega, L.C.A.; Ariza, R.A. y Rodríguez W.F.L. Brucelosis. Una infección vigente. Mediagraphic Artemisa. [en línea] <http://www.mediagraphic.com/pdfs/actmed/am-2008/am084.pdf> [Consulta: 16, mayo, 2017].