



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SERVICIO PROFESIONAL

EPIDIDIMITIS OVINA CAUSADA POR
(Brucella ovis)

QUE PRESENTA:

FREDY MONTAÑO HERNÁNDEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

Dr. VICTOR MANUEL SÁCHEZ PARRA

MORELIA, MICHOACÁN

NOVIEMBRE, 2019



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SERVICIO PROFESIONAL

EPIDIDIMITIS OVINA CAUSADA POR
(Brucella ovis)

QUE PRESENTA:

FREDY MONTAÑO HERNÁNDEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MORELIA, MICHOACÁN

NOVIEMBRE, 2019

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a Dios por darme una segunda oportunidad de vida, por salir adelante después del trágico accidente que tuve en mayo del 2013. No tengo palabras suficientes para mi Dios, pero si dos rodillas que pueden tocar el suelo y así poder agradecer por todo lo maravilloso que he conseguido en esta vida, terminar la carrera de MVZ que la verdad no fue fácil. El me dio la inmensa fuerza para seguir luchando, por no soltarme de la mano en los momentos difíciles de carrera y de la vida, porque sin el yo no soy nada.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por darme la oportunidad de prepararme profesionalmente en la institución y así poder prestar los servicios en los ranchos ganaderos. A cada uno de los profesores Médicos Veterinarios Zootecnistas que me brindaron de su enseñanza incondicionalmente en el transcurso de la carrera.

A mis queridos padres Felipe Montaña Hernández y María Paula Hernández Martínez, que gracias a su apoyo económico y moral pude salir adelante, por sus consejos, por sus acciones de lucha en esta vida, por enseñarme que lo bueno se consigue a base de mucho esfuerzo y perseverancia.

A mis hermanos Aracely Montaña Hernández, Martin Montaña Hernández, Liz Ariana Montaña Hernández y mi sobrino Cristian Michael Mar Montaña por todo el apoyo y cariño que me han brindado. Por estar conmigo en momentos difíciles, y por confiar en mí.

A mis grandiosos abuelos Lucia Hernández Hernández, Elvia Bautista Martínez y Martin Montaña Tecillos. A mis tíos por apoyarme con sus oraciones día con día, por los grandiosos consejos que me han dado, por enseñarme a ser humilde ante la gente, por enseñarme a trabajar honradamente y jamás rendirse en esta vida.

Al Dr. Víctor Manuel Sánchez Parra por la orientación y ayuda brindada como asesor de mi trabajo de investigación para mi titulación “tesina”.

A mis mejores amigos Brandon Patiño, Arturo López, Maximiano Estrada, Carlos Mora, Adrián Gonzales y José Manuel Ríos por todo el apoyo que me brindaron en la carrera y en mis problemas personales.

ÍNDICE

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCION	10
Brucella ovis	12
TRANSMISION	14
PATOGENIA	15
RESPUESTA ANTIESPERMÁTICA.....	16
SIGNOS	16
DIAGNOSTICO	17
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	21
NORMATIVIDAD	21
MORBILIDAD Y MORTALIDAD	23
LESIONES POST MORTEM.....	23
LESIONES HISTOPATOLOGICAS.....	24
CONTROL Y PREVENCIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	27
REFERENCIAS.....	28

RESUMEN

Brucella ovis es una enfermedad muy conocida que afecta de manera importante a la producción ovina, es considerada el motivo principal de los problemas reproductivos en los pequeños rumiantes. Esta infección causa pérdidas significativas debido a la disminución de la productividad y las pérdidas comerciales en muchos países en desarrollo. La enfermedad se encuentra en todas las regiones del país donde se crían ovinos, con prevalencias que varían de 3 a 50%. En el ser humano la brucelosis es una enfermedad grave, debilitante y, algunas veces crónica que puede afectar diversos órganos. Aunque la mayoría de los casos se deben a la exposición ocupacional a animales infectados, las infecciones también pueden ocurrir al ingerir productos lácteos contaminados. Es muy importante tomar en cuenta las medidas de prevención y control tanto en salud pública como en salud animal, para evitar el contagio con otras especies. El diagnóstico se puede realizar a través de la detección y/o aislamiento del agente, la detección de lesiones, cambios en el semen y a través de análisis serológicos. La fijación del complemento, la Inmunodifusión en gel y el ELISA son las pruebas más usadas. Para el control de la enfermedad se cuenta con la vacuna comercial inactiva contra *B. ovis* que si bien ha demostrado ser la más efectiva, presenta algunos inconvenientes a resolver.

Palabras clave: rumiante, reproducción, carnero, vacuna, inmunodifusión

ABSTRACT

Brucella ovis is a well-known disease that significantly affects sheep production, it is considered the main reason for reproductive problems in small ruminants. This infection causes significant losses due to decreased productivity and commercial losses in many developing countries. The disease is found in all regions of the country where sheep are raised, with prevalences ranging from 3 to 50%. In humans, brucellosis is a serious, debilitating and sometimes chronic disease that can affect various organs. Although most cases are due to occupational exposure to infected animals, infections can also occur when ingesting contaminated dairy products. It is very important to take into account prevention and control measures in both public and animal health, to avoid contagion with other species. The diagnosis can be made through the detection and / or isolation of the agent, the detection of lesions, changes in the semen and through serological analyzes. Complement fixation, Gel Immunodiffusion and ELISA are the most used tests. For the control of the disease there is an inactive commercial vaccine against *B. ovis* that although it has proven to be the most effective, it has some problems to solve.

Keywords: ruminant, reproduction, ram, vaccine, immunodiffusion

INTRODUCCIÓN

La Epididimitis Ovina infecciosa es una enfermedad crónica, de transmisión venérea y distribución mundial en la cual la principal lesión es la epididimitis, es considerada una enfermedad económicamente importante, por sus efectos adversos sobre la fertilidad (Burgess, 1982). Los agentes causantes del desarrollo de lesiones del epidídimo principalmente, aunque también causan infecciones ascendentes a los testículos y glándulas accesorias del aparato genital son numerosos, aunque las bacterias aisladas con mayor frecuencia son, *Brucella ovis*, *Histophilus somni* y *Actinobacillus seminis* (Acosta, et al., 2007).

B. ovis infecta a las ovejas y a los venados criados en granja (*Odocoileus virginianus*) en Nueva Zelanda. Se han informado infecciones experimentales en cabras y ganado bovino, pero no existe evidencia de que estas especies se infecten de manera natural. *Brucella ovis*, causa epididimitis, orquitis y disminución de la fertilidad en carneros. En las hembras causa placentitis, abortos e infertilidad fundamentalmente en hembras de primer servicio y aumento de la mortalidad perinatal en corderos (Manazza, et al., 2006).

B. ovis se suele transmitir de carnero a carnero por transmisión venérea pasiva a través de la oveja. Las ovejas pueden transportar este microorganismo en la vagina durante al menos dos meses y actuar como vectores mecánicos. Algunas ovejas se infectan y liberan *B. ovis* en las descargas vaginales y la leche. Los carneros se suelen infectar de manera persistente, y muchos de ellos excretan *B. ovis* esporádicamente durante 2 a 4 años o más. También se puede transmitir por contacto directo no venéreo entre los carneros. La transmisión de carnero a carnero es poco conocida y se puede producir por diversas vías, incluida la transmisión oral. Se ha comprobado la excreción del organismo en la orina, el semen y las secreciones genitales. La contaminación de las pasturas no parece ser un medio importante de transmisión de *B. ovis* (Ridler, et al., 2002).

Los primeros datos sobre la epididimitis ovina en México causada por *B. ovis* datan de estudios serológicos realizados en 1974; en 1979 se logró el aislamiento de la bacteria a partir de casos clínicos en carneros procedentes de Estados Unidos (Pérez, et al., 1979). La prevalencia de la epididimitis por *B. ovis* varía entre el 5 y 100% de los carneros del rebaño, pero habitualmente se encuentra entre el 10 y 40% (Acosta & Tórtora, 2005).

Pese a que la enfermedad se ha incluido en la Campaña Nacional contra la Brucelosis (NOM-041-ZOO-1995), las medidas de control no se han implementado y la bacteria se sigue diseminando en el país, el diagnóstico individual de rebaños y animales sospechosos debe considerar diversas estrategias para apoyar alternativas de control eficaz.

Brucella ovis

El género *Brucella* está compuesto por pequeños cocobacilos Gram negativos capaces de infectar animales. Tradicionalmente se han descrito seis especies, que se clasificaron según su hospedador preferente: *B. abortus* infecta ganado vacuno, *B. melitensis* cabras y ovejas, *B. canis* perros, *B. suis* cerdos y pequeños roedores, *B. ovis* carneros y *B. neotomae*, aislada en la rata-cambalachera desértica (Godfroid, et al., 2011). Algunas de estas especies se subdividen también en biovariedades, a medida que la investigación ha avanzado se han aislado nuevas brucelas de otros hospedadores, por lo que se han propuesto nuevas especies de *Brucella*.

En general, la infección por las especies “clásicas” de *Brucella* en animales provoca infertilidad y aborto infeccioso en las hembras, en machos provoca orquitis, epididimitis o esterilidad. La infección se puede establecer crónica y el patógeno puede excretarse por las glándulas mamarias o el semen. Algunas especies de *Brucella* pueden transmitirse a humanos causando una enfermedad zoonótica que se conoce como fiebre de Malta. La enfermedad en humanos ocurre principalmente en personas en contacto con el ganado, con el agente etiológico, por el consumo de productos lácteos o derivados no pasteurizados. No existe evidencia de transmisión de persona a persona (Castaño & Solera, 2009).

B. ovis se aisló por primera vez en 1950 en Nueva Zelanda (McFarlane, et al., 1952), y unos años después en 1953 en Australia (Simmons & Hall, 1953). En un principio se describió como un mutante rugoso estable de *B. melitensis*, pero en 1956, Buddle propuso separarla como una especie diferente, *B. ovis* (Buddle, 1956).

B. ovis es considerada el principal motivo de los problemas reproductivos en el ganado ovino. La enfermedad está muy extendida en el continente americano, Europa, Sudáfrica, Asia, y muy probablemente, ocurra en la mayoría de los países con explotaciones ovinas (Blasco, 1990). Además de ovejas y carneros, se ha aislado en granjas de ciervo común (Ridler, et al., 2006).

EPIDEMIOLOGÍA

La epididimitis de los carneros producida por *B. ovis* ha sido diagnosticada prácticamente en todos los países donde se crían ovinos. Tanto machos como hembras pueden infectarse, pudiendo transformarse en portadores; pero, en la epidemiología de la enfermedad, el macho es quien adquiere un papel predominante debido a su capacidad de difundir la enfermedad a otras majadas; siendo la puerta de entrada de la infección al establecimiento libre, la introducción de animales enfermos. Es una enfermedad de carácter venéreo, el material de elección para la transmisión es el semen, siendo la vía más importante la encarnurada. Un macho infectado lo transmite a una hembra sana que actúa como vector mecánico, transmitiendo la enfermedad a los machos que la cubren (Trezeguet, et al., 2015).

La brucelosis ovina en nuestro país está ampliamente difundida en la Mesopotamia, Patagonia y Pampa húmeda, con prevalencias que varían entre un 4% y un 37% en establecimientos infectados

La presencia de *B. ovis* es universal y su distribución varía de acuerdo a diferentes factores cuales son la región, la raza, la edad, el sexo, etc. La infección por *B. ovis* ha sido registrada en la mayoría de aquellos países en donde la cría de ovinos es una actividad económica importante. Si bien hay algunos países que han controlado y erradicado la enfermedad, de muchos otros no hay información disponible. Cuando la enfermedad es reportada por primera vez en un país o región la incidencia suele ser alta con un 20% a un 60% de los carneros infectados y un 45 a 70% de las majadas infectadas. En países donde la enfermedad es endémica la incidencia tiende a ser menor. La prevalencia y distribución de la enfermedad varía también a veces en gran medida entre regiones y aún entre establecimientos. En Argentina, si bien nunca se ha hecho un relevamiento nacional, se sabe que en la Región Mesopotámica las prevalencias a nivel departamental varían entre un 11% y un 21%, mientras que en la Patagonia las prevalencias varían de un 4% a 10% en Río Negro, Neuquén y Chubut y de un 8% a 20% en Santa Cruz y Tierra del Fuego (Robles, A. 2007).

TRANSMISIÓN

Brucella ovis normalmente se excreta en el semen de carneros infectados y la transmisión venérea pasiva a través de la oveja parece ser la vía más frecuente de infección, pero la transmisión de carnero a carnero también es muy común (Blasco, 1990). El contagio entre carneros se produce en períodos de estabulación prolongada por medio del contacto que se realiza a través de la mucosa oral (lamido), nasal (olfateo), conjuntival o por vía percutánea a través de heridas o excoriaciones así mismo las conductas de monta entre los machos fuera de la época de servicio, favorece la entrada del microorganismo a través de la mucosa rectal.

El carnero infectado con *B. ovis* constituye un reservorio en el rebaño, siendo el semen fundamental en la difusión del germen. La liberación de la bacteria se produce en forma intermitente y por períodos prologados, habiéndose hallado cultivos positivos hasta 80 semanas pos infección experimental. Es posible que la infección congénita pueda ocurrir, al menos en un bajo porcentaje de corderos. Aunque la hembra es relativamente más resistente a la infección algunos autores sostienen que juega un rol importante en la difusión de la enfermedad. La hembra puede transmitirlo a otros machos sanos si es montada por estos dentro de un mismo ciclo estral y esto explica los brotes de brucelosis posteriores a la época de servicio. Sin embargo, se ha visto que la hembra mantiene la infección por más de dos ciclos y podría ser la responsable de difundir la enfermedad de un año a otro (INTA EEE Balcarce; 2008)

PATOGENIA

La infección con *B. ovis* se produce a través de las membranas mucosas, una vez ingresada al animal, coloniza los linfonodos regionales donde se multiplica activamente, durante 60 a 70 días circula en sangre produciendo bacteremia, se ubica en órganos como hígado, riñón, bazo y finalmente en los genitales en forma crónica alrededor de los 30 días pos-infección (Biberstein, et al., 1964).

La infección vía conjuntival o prepucial produce los cambios patológicos macroscópicos más importantes, detectables en la porción caudal del epidídimo, pudiendo extenderse a otras regiones de este órgano. Alteraciones en testículos y glándulas anexas se observan ocasionalmente, ya que generalmente son detectados ciertos cambios macroscópicos como mineralización y fibrosis (Paolicchi, et al., 1995). Frecuentemente carneros infectados y que excretan *B. ovis*, en el semen con alto contenido de células inflamatorias y títulos serológicos positivos por ELISA, no desarrollan lesiones detectables clínicamente por un periodo prolongado pos infección (Paolicchi, et al., 1999).

La bacteria coloniza preferentemente al tejido epididimario, quizá por la presencia de eritritol, a la anatomía de los vasos sanguíneos y a una marcada adhesividad a la superficie celular de los epitelios que poseen las *Brucellas* rugosas (Detilleux, et al., 1990). Sin embargo, también invade las ampollas de los conductos deferentes y las vesículas seminales, pudiendo extenderse a los testículos, glándulas bulbouretrales o próstata produciendo un cuadro histopatológico característico de estas infecciones genitales. *B. ovis*, se encuentra relativamente protegido dentro del tracto genital ya que la internalización por fagocitosis dentro del retículo endoplasmático rugoso de células inflamatorias, ofrece la seguridad de que no serán destruidas dentro de los fagolisosomas, aunque de esa manera no se encuentra en fase replicativa. Esta podría ser la razón por la que en ciertos casos se aísla *B. ovis*, de carneros infectados a partir de tejidos libres de lesiones histológicas.

RESPUESTA ANTIESPERMÁTICA

Los espermatozoides son considerados antígenos propios, secuestrados y aislados del sistema inmunológico, a través de la barrera hematotesticular, tempranamente durante el desarrollo de la respuesta inmune. En contacto con células del sistema inmunológico maduro, pueden desencadenar fenómenos de auto sensibilización espermática. También, los liposacáridos (LPS) de la pared de las *Brucellas* son capaces de inducir respuestas muy potentes que producen incrementos de IgG e IgM, estimulación del complemento y actividad adyuvante entre otras, siendo los antígenos inmuno dominantes en *B. ovis* LPS (8-12kD) y OMP (29kD), entre otros. Esto tiene gran importancia en la regulación del tipo de respuesta inmune que genera tanto celular como humoral (Mazzolli, et al., 1992) .

SIGNOS

La manifestación clínica característica de la enfermedad es una inflamación en la cola del epidídimo, que puede extenderse al cuerpo y cabeza, los epidídimos se encuentran aumentados de tamaño, indurados y con menor elasticidad. En la mayoría de los casos las lesiones son unilaterales, pero pueden observarse ambos testículos afectados. La fertilidad se ve afectada hasta nula con alteraciones en el espermograma. En las hembras se observa placentitis, abortos que ocurren en el último tercio de la gestación e infertilidad especialmente en las de primera cría, la infertilidad es temporaria siendo normal en el próximo servicio. También se presentan nacimientos de corderos débiles que mueren al poco tiempo de nacidos (Blasco, 1990).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la enfermedad se realiza basándose en la serología de los carneros junto a la presencia de signos clínicos. Es importante recordar que solamente 1/3 de los carneros presenta lesiones palpables en el examen reproductivo (Trezeguet, et al., 2015).

B. ovis no es zoonótica; sin embargo, en aquellas áreas donde *B. melitensis* y *B. ovis* coexisten, se debe tener especial cuidado al manipular y enviar muestras, dado que *B. melitensis* es altamente patogénica para los humanos. El semen, los hisopados vaginales, la leche y los frotis de tejidos se pueden teñir y examinar al microscopio. Se puede aislar *B. ovis* de las muestras de semen de carneros vivos, y de los hisopados vaginales y la leche de las ovejas vivas. Puede resultar necesario repetir la toma de muestras, dado que *B. ovis* puede ser excretada de manera esporádica.

Durante la necropsia los tejidos que se toman preferentemente de los carneros son el epidídimo, las vesículas seminales, las ampollas del conducto deferente y los nódulos linfáticos inguinales. En las ovejas se pueden tomar el útero y los ganglios linfáticos ilíacos y supra mamarios. En los corderos abortados y mortinatos los sitios preferidos para tomar muestras para el cultivo son el pulmón y el contenido del abomaso.

Si bien existen varias técnicas para el diagnóstico oficial de *Brucella ovis*, varios estudios comparativos han demostrado que el ELISA presenta mayor sensibilidad y especificidad que las demás pruebas, considerándose una técnica muy confiable para el diagnóstico, puede utilizarse como única prueba, para el control y erradicación de la enfermedad.

En el examen de laboratorio puede seguir dos caminos:

- A. Método directo o puesta en evidencia del agente patógeno.

B. Método indirecto o puesta en evidencia de los anticuerpos.

El método directo comprueba la existencia del agente patógeno, lo hace por medio de:

- Examen microscópico/ Tinción
- Cultivos bacterianos (diagnóstico bacteriológico)

Examen microscópico / Tinción:

El examen bacterioscópico presta un gran servicio cuando la epidemiología, los síntomas y lesiones evocan una etiología brucelar. Los frotis realizados a partir de cotiledones permiten descubrir las brucelas por el método de GRAM, STAMP o KOSTER. Las brucelas se observan después de la tinción y microscópicamente aparecen pequeños cocobacilos, gram-negativos, coloreados en rojo cereza, aunque el fondo de la preparación es azulado, que se disponen aislados o agrupados en amas entre las células o en el interior de las mismas, más frecuentemente son intracelulares.

Sus dimensiones oscilan entre 0,6-1,5 micras de longitud por 0,5-0,7 micras de anchura. No son ácido-alcohol resistente en sentido estricto, pero son resistentes a la decoloración por ácidos débiles, por lo que se tiñen de rojo por el método modificado de Ziehl-Neelsen (Stamp). Esta prueba permite ofrecer un diagnóstico presuntivo, por tanto, no es definitivo, ya que las coloraciones descritas son parecidas o similares a otros gérmenes patógenos: *Coxiella burnetti* y *Chlamidophila abortus*.

Diagnóstico bacteriológico:

Para el diagnóstico de laboratorio de la brucelosis ovina, es evidente que el examen directo o bacteriológico no es práctico en las situaciones de campañas de saneamiento ganadero, sin embargo, hay que tener en cuenta que las secreciones vaginales tras el parto o aborto, la leche y el esperma son las muestras

recomendables para el cultivo bacteriano, que sólo se hará en laboratorios especializados. Es mejor cultivar las muestras con medios selectivos (Thayer-Martin modificado) y en caso de crecimiento bacteriano, las colonias de brucelas en aislamiento primario no suelen ser visibles hasta los 3-5 días de incubación.

Para la identificación de las colonias aisladas las pruebas bioquímicas de oxidasa y ureasa que hayan dado resultado positivo, junto a la tinción de unos frotis de muestras patológicas por el método GRAM, STAMP o KOSTER con observación microscópica de cocobacilos gram-negativos son suficientes para garantizar un diagnóstico certero de brucelosis. (Durán, 2010).

La mayoría de las especies de brucelas crecen sin dificultad en medios ordinarios. Sin embargo, debido a la gran contaminación que suelen tener todas las muestras por bacterias de crecimiento rápido, es necesario emplear medios selectivos para el aislamiento primario. Los medios selectivos más usuales son el medio de Farrell y el medio de Thayer-Martin modificado.

Los métodos indirectos o diagnósticos serológico de la brucelosis, ovina se basan en la detección de anticuerpos humorales específicos. Las técnicas que se pueden utilizar son las siguientes:

- Seroaglutinación lenta en tubo
- Seroaglutinación rápida en placa
- Ensayo de fluorescencia polarizada
- Inmunofluorescencia
- ELISA (Enzimoimmunoanálisis de absorción)
- Prueba de Fijación de complemento.

De dichas pruebas serológicas destacan las pruebas de Rosa Bengala y la Reacción de Fijación de Complemento. Se realizan cotidianamente y son una de las bases de los planes de lucha y erradicación de la brucelosis, aunque se ensayan el resto de pruebas con el fin de estudiar la sensibilidad y especificidad de cada una de ellas.

Rosa Bengala: El antígeno de Rosa Bengala está constituido por células en suspensión en una solución de pH ácido, que aglutina específicamente cuando es reconocido por los anticuerpos presentes en la muestra problema. La interpretación de los resultados se expresará con el siguiente criterio:

Resultado POSITIVO: los sueros que presentan aglutinación.

Resultado NEGATIVO: los sueros que presentan ausencia de aglutinación.

Esta técnica se emplea frecuentemente como prueba screening, pero con resultados, a veces dudosos, de sensibilidad y especificidad, (porcentajes de falsos positivos y falsos negativos respectivamente). Entre los mismos, suele haber en ciertos casos, enfermos de brucelosis crónica, que tras el examen con la técnica de Rosa Bengala nos da un resultado negativo. Dicha negatividad serológica está causada por la desaparición de los anticuerpos aglutinantes y si no se continuase la investigación y no se comprobase con otras pruebas serológicas (prueba de fijación de complemento) y estudio clínico y epizootiológico, este animal que real y clínicamente es un animal positivo a la brucelosis sería una fuente de infección para otros individuos. Realmente estamos ante un caso de un Reactor serológico falso negativo. El ejemplo presentado demuestra que la prueba de Rosa Bengala presenta una baja sensibilidad frente la cronicidad de la infección brucelósica.

Prueba de Fijación de Complemento: Esta técnica permite sacar las dudas de los resultados de screening de la técnica de Rosa Bengala. Es una prueba confirmatoria. El fundamento de la técnica es el siguiente: se incuban el antígeno y el suero problema con previa inactivación y supresión del complemento sérico. Se añade el complemento de cobaya. Tras la reacción de los tres reactivos (antígeno, suero y complemento de cobaya), se mide la cantidad de complemento libre mediante la incorporación del sistema hemolítico formado por eritrocitos de cordero recubiertos de anticuerpos (hematíes sensibilizados).

El resultado de la técnica estará en función del grado de hemólisis. La muestra será POSITIVA cuando haya ausencia de hemólisis con sedimentación de los hematíes en

el fondo del pozo de la placa, lo que significa que la muestra presenta anticuerpos específicos fijadores del complemento. En cambio, será una muestra NEGATIVA cuando el sobrenadante es translúcido y hay ausencia del botón rojo en el fondo del pozo, lo cual es la demostración de que en la reacción ha habido hemólisis, y por tanto no existen anticuerpos fijadores de complemento. Para la titulación de los resultados existen unos parámetros y ecuaciones que dan las valoraciones cuantitativas de las muestras positivas y una valoración cualitativa de las muestras negativas.

Un suero problema es positivo cuando contenga 20 o más unidades internacionales de prueba de fijación de complemento por mililitro, dicha titulación es el punto de corte. Las muestras con títulos inferiores a 20 U. I. por ml. son consideradas negativas.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Se deben tomar en cuenta otras bacterias que causan epididimitis y orquitis. Los microorganismos aislados con mayor frecuencia incluyen a *Actinobacillus seminis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Histophilus ovis*, *Haemophilus spp.*, *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis*, *Chlamydomphila abortus* y *B. melitensis*, pero muchos otros pueden causar estas enfermedades. Además, se deben descartar los granulomas espermáticos estériles inducidos por trauma. (Health, 2013)

El diagnóstico diferencial es Brucelosis caprina (*Brucella melitensis*), Aborto enzoótico ovino (AEO), Fiebre Q, Linfadenitis caseosa, y traumas.

NORMATIVIDAD

La NORMA Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales, en su punto 7.1 se menciona que El diagnóstico de brucelosis en bovinos, caprinos, ovinos y porcinos, se debe realizar en los laboratorios aprobados por la Secretaría, con muestras de suero sanguíneo, leche,

líquidos corporales y muestras de tejidos, mediante pruebas inmunológicas, estudios bacteriológicos u otros que sean autorizados por la Secretaría.

En el punto 7.2 indica que las pruebas inmunológicas establecidas por la Dirección y efectuadas por el personal oficial o aprobado son: para especies lisas la prueba de tarjeta, rivanol, fijación del complemento y prueba de anillo en leche; para detección de *Brucella ovis*, la prueba de inmunodifusión doble. La prueba de tarjeta y la de anillo en leche, podrán ser realizadas por un Médico Veterinario oficial o aprobado, o bien, por un laboratorio aprobado. Las pruebas de rivanol, fijación del complemento e inmunodifusión doble, deben ser realizadas por un laboratorio aprobado. Los Médicos Veterinarios aprobados que apliquen la prueba de tarjeta en campo y los laboratorios aprobados deben pasar pruebas de aptitud, tener la infraestructura mínima necesaria que garantice la correcta realización de la prueba y llevar registro tanto de todas las pruebas que realicen, como de los reactivos utilizados.

7.3. 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.

7.4. A fin de realizar constataciones para aclaraciones, el Médico Veterinario que realiza las pruebas, debe mantener en congelación alícuotas de los sueros probados al menos durante tres meses posteriores a la fecha de realización del diagnóstico y debe ponerlas a disposición de la autoridad que se lo solicite; el congelador del que disponga debe cumplir con los requisitos que establece la Secretaría. 7.5. El Médico Veterinario aprobado debe informar a la Secretaría sobre sus actividades de diagnóstico, especificando el reactivo y prueba realizada, así como el laboratorio productor, número de lote de producto utilizado y fecha de caducidad del producto (Secretaría de Agricultura, 1996)

Dicha norma Menciona en sus puntos 7.6-7.11 las diferentes pruebas para el diagnóstico de *B. Ovis* las cuales son: Prueba de fijación de complemento (En caprinos y ovinos los positivos serán aquellos en los que se obtengan títulos mayores de 1/4.), el diagnóstico de *B. ovis*, se realizará con la prueba de Inmunodifusión doble

en gel, con muestras de suero sanguíneo no hemolizado de ovinos. Para la prueba se empleará antígeno proteico específico de *B. ovis* autorizado por la Secretaría, preparado a partir de la extracción en caliente con solución salina (Secretaría de Agricultura, 1996).

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

Aproximadamente 30 % a 50 % de los carneros infectados muestran lesiones palpables en el epidídimo. *B. ovis* tiene un efecto reducido en la calidad espermática de algunos animales individuales, pero causa disminuciones graves en la motilidad, concentración y morfología del espermatozoide en otros. Los cálculos de la tasa de abortos en las hembras y de muerte perinatal varían. Algunas fuentes informan tasas del 1 % a 2 %, mientras que otras indican que estos resultados son poco frecuentes. Estudios experimentales reducidos han informado tasas de aborto que oscilan entre 0 % y 8 %.

LESIONES POST MORTEM

En las necropsias, las lesiones en los carneros se hallan principalmente en el epidídimo, la túnica vaginal y los testículos, estas varían de un agrandamiento del epidídimo a grandes induraciones, el agrandamiento del epidídimo puede ser unilateral o bilateral, y la cola se ve afectada con mayor frecuencia que la cabeza o el cuerpo, se pueden encontrar espermatoceles con líquido espermático espeso en el epidídimo y atrofia fibrosa en los testículos. La túnica vaginal se suele presentar engrosada y fibrosa y con amplias adherencias. En los corderos los nódulos linfáticos inguinales se encuentran aumentados de tamaño y en las ovejas se puede observar

placentitis además de que los ganglios linfáticos supra mamarios e iliacos del útero se encuentran agrandados (Ridler, et al., 2006).

LESIONES HISTOPATOLÓGICAS

La liberación de bacterias desde células fagocíticas y en contacto con los tejidos, provoca una fuerte respuesta serológica y celular, con el desarrollo de lesiones severas que conducen a la formación de granulomas espermáticos. Los eventos se inician con exudación serofibrinosa, acúmulo de linfocitos en áreas perivasculares y de células plasmáticas con desarrollo de hiperplasia del endotelio capilar. Posteriormente aparecen neutrófilos, especialmente en áreas donde se está produciendo espermostasia.

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 con la formación de áreas mayores papilomatosas o hiperplásicas que determinan los característicos “quistes intraepiteliales” que contienen neutrófilos y bacterias en su interior. En el intersticio se observa una progresiva fibrosis que complementa la distorsión tubular y por último, la ruptura del túbulo epididimario pone en contacto a los espermatozoides con células inflamatorias presentes en el intersticio desencadenando una respuesta antiespermática con un granuloma de sensibilización (Paolicchi, et al., 2000).

CONTROL Y PREVENCIÓN

B. ovis generalmente ingresa a un rebaño a través de semen o animales infectados. Se puede disminuir la prevalencia de la infección si se examina a los carneros antes de la estación reproductiva y se elimina a los animales con anomalía palpables. Aun

así, no se encuentran lesiones palpables en todos los carneros infectados, y también se deben considerar las pruebas de laboratorio. En algunas áreas, se puede disponer de carneros y rebaños certificados como libres de *B. ovis*.

En Nueva Zelanda se utiliza una vacuna comercial inactivada contra *B. ovis*. En otros países se puede vacunar a los corderos destetados con la vacuna contra *B. Melitensis* Rev-1. Aunque el tratamiento con antibióticos se ha utilizado con éxito en algunos carneros de valor, no suele resultar económicamente viable para la mayoría de los animales. La fertilidad puede mantenerse en un nivel bajo aún si se elimina el microorganismo. Generalmente, las infecciones en las ovejas se evitan al controlar las infecciones en los carneros.

Las especies de *Brucella* se eliminan fácilmente mediante los desinfectantes más comunes, entre ellos las soluciones de hipoclorito, el etanol al 70 %, el isopropanol, los yodóforos, los desinfectantes fenólicos, el formaldehído, el glutaraldehído y el xileno; no obstante, la materia orgánica y las bajas temperaturas disminuyen la eficacia de los desinfectantes.

Se ha informado que los desinfectantes que eliminan *Brucella* de las superficies contaminadas incluyen el hipoclorito de sodio al 2.5 %, la soda cáustica al 2 o 3 %, una suspensión de cal apagada al 20 % o una solución de formaldehído al 2 % (todos probados durante una hora).

En la piel contaminada se pueden utilizar soluciones de etanol, isopropanol, yodóforos, fenoles sustituidos o hipoclorito diluido. No se aconseja la utilización de compuestos del amonio cuaternario del grupo alquilo. Se puede utilizar la esterilización en autoclave [calor húmedo de 121 °C (250 °F) durante al menos 15 minutos] para eliminar las especies de *Brucella* del equipo contaminado. Además, estos organismos se inactivan por el calor seco [160 a 170 °C (320 a 338 °F) durante al menos 1 hora]. El hervido durante 10 minutos suele ser eficaz en el caso de los líquidos. Se ha informado que el xileno (1ml/litro) y la cianamida de calcio (20 kg/m³)

sirven para descontaminar el estiércol líquido después de un plazo de 2 a 4 semanas. Las especies de *Brucella* también se inactivan mediante radiación gamma (por ej. en el calostro) y la pasteurización.

Su persistencia en el queso sin pasteurizar se ve influenciada por el tipo de fermentación y el tiempo de maduración. Se desconoce el tiempo de fermentación necesario para garantizar la seguridad en los quesos fermentados maduros, pero se calcula que es de aproximadamente tres meses. Las especies de *Brucella* sobreviven durante períodos cortos en la carne, a menos que esté congelada; en este último caso se han informado tiempos de supervivencia de años.

El Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) en su Resolución Nº 545/2015 establece el control de la Brucelosis ovina, la normativa entró en vigencia el 10 de noviembre de 2015, establece los requisitos sanitarios para la certificación de establecimientos libres de Brucelosis ovina, para el movimiento en el mercado interno y exportación de ganado, acordes a las exigencias de los países compradores y las recomendaciones emitidas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), así como las tareas que debe desarrollar un veterinario acreditado para esta enfermedad.

La presente normativa establece que todo reproductor de la especie ovina, macho, mayor de seis (6) meses de edad que concurra a una exposición ganadera o a un remate feria especial de reproductores o sea trasladado a otro establecimiento, debe contar con un certificado negativo a *Brucella ovis* otorgado por un médico veterinario acreditado, realizado en un plazo previo no mayor a 60 días a la fecha de emisión del Documento de Tránsito Electrónico (DTE).

Respecto al procesamiento de las muestras serológicas obtenidas de estos reproductores, sólo podrá realizarse en el laboratorio animal del SENASA y en los laboratorios incorporados a la Red Nacional de Laboratorios de Ensayos y Diagnósticos del SENASA; y el análisis de las mismas, deberá realizarse por la

técnica de Inmunodifusión en gel de agar o ELISA y, en caso de existir resultados discordantes, se utilizará la prueba de fijación de complemento como definitiva. A su vez, los productores que quieran gestionar la certificación por parte del SENASA de establecimiento libre de brucelosis ovina, deben presentar dos resultados serológicos negativos consecutivos, con intervalo de 60 a 90 días, de la totalidad de los reproductores machos mayores a seis (6) meses. La certificación tendrá una validez de un año.

La NORMA Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales, en el punto 14, indica que hay que tomar medidas de cuarentena en las cuales, en las cuales se debe dar el motivo de la cuarentena, unidades de producción y una correcta desinfección (Secretaría de Agricultura, 1996).

CONCLUSIONES

La brucelosis desde un punto vista veterinario, son un quebranto en la fisiopatología de las glándulas sexuales, perturbando numerosas aplicaciones zootécnicas de la Fisiología de los animales domésticos, alterando la dinámica reproductora de ambos sexos, de una manera más o menos profunda, según se trate de las hembras o de los machos respectivamente y la Veterinaria que está entregada a los campos de la Medicina animal, Sanidad Animal y Salud Pública lidera con éxito la lucha en la erradicación de la brucelosis como enfermedad animal transmisible a la especie humana (zooantroponosis).

REFERENCIAS

- (OIE), W. O. f. A. H., 2004. *Manual of diagnostic test and vaccines*. [En línea] Available at: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00068.htm [Último acceso: Agosto 2019].
- Acosta, D. y otros, 2007. Determination of pathological changes in the reproductive track, IgG, IgM and IgA antibodies in blood, seminal plasma and smega of rams inoculated with *Actinobacillus seminis*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, pp. 6, 105-113.
- Acosta, D. & Tórtora, P., 2005. Epidemiología, prevención y control de la Epididimitis ovina. En: *Enfermedades de importancia económica en producción animal*. Distrito Federal, México: McGraw-Hill Interamericana- Univ. Autónoma de Yucatán, pp. 379-392.
- Alton, G., Jones, L., Angus, R. & Verger, J., 1998. *Techniques for the brucellosis laboratory*, Paris, France: Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).
- Biberstein, E., McGowan, B., Olander, H. & Kennedy, P., 1964. Epididymitis in ram. Studies on pathogenesis. *The Cornell Vet*, LIV(1), pp. 27-41.
- Blasco, J., 1990. *Brucella ovis*. En: *Animal Brucellosis*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Buddle, M., 1956. Estudios sobre *Brucella ovis*, una causa de enfermedad genital de ovejas en Nueva Zelanda y Australia. *J Hyg (Lond)*, pp. 54:351-364.
- Burgess, G., 1982. Epididimitis contagiosa ovina: una revisión. *Vet Microbiol*, pp. 7: 551-575.
- Burgess, G., 1982. Ovine contagious epididymitis. *Veterinary Microbiology*, pp. 7, 551-575.
- Carpenter, T., Berry, S. & Glenn, J., 1987. Economía del control de *Brucella ovis* en ovejas: modelo de simulación epidemiológica. *J Am Vet Med Assoc*, pp. 190: 977-982.
- Castaño, M. & Solera, J., 2009. Chronic brucellosis and persistence of *Brucella melitensis* DNA. *J Clin Microbiol*, pp. 47: 9-20.
- Detilleux, P., Deyoe, B. & Cheville, N., 1990. Entry and intracellular localization of *Brucella* spp. in vero cell: fluorescence and electron microscopy. *Vet. Pathol*, Issue 27, pp. 317-328.
- Durán, M., 2010. *Factores condicionantes de la lucha contra la brucelosis*, s.l.: s.n.

- Godfroid, J. y otros, 2011. Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Prev Vet Med*, pp. 102: 18-31.
- Health, T. C. f. f. S. & p., 2013. *Lowa Estate University college of veterinary y medicine*. [En línea]
Available at: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_ovis-es.pdf
[Último acceso: 25 agosto 2019].
- Manazza, J., Spath, E. & Paolicchi, F., 2006. Brucelosis ovina. *Revista del Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires*, pp. 11, 42-44.
- Mazzolli, A., Kortebani, L. & Paolicchi, F., 1992. *Infección e inmunidad en el tracto genital*, Arequipa, Perú: IV Curso Int de Reprod.
- McFarlane, D., Salisbury, R., Osborne, H. & Jebson, J., 1952. Investigation into sheep abortion in New Zealand during the 1950 lambing season. *Aust Vet J*, pp. 28:16-22.
- Paolicchi, F. y otros, 2000. Antisperm response in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. *Small Rum Res*, Issue 36, pp. 7-15.
- Paolicchi, F. y otros, 1995. Lectin histochemical study on the reproductive tract in normal and *Brucella ovis* infected rams. *J Vet Med Sci*, Issue 57, pp. 935-938.
- Paolicchi, F. y otros, 1999. Aislamiento de *Brucella ovis* del semen de carneros seropositivos al test de ELISA y clínicamente sanos. *Rev. Arg. Microbiol.*
- Pérez, E., Flores, C., De la Higuera, J. & Trigo, T., 1979. Diagnóstico y descripción de un brote de epididimitis ovina en México originado por *Brucella ovis*. *Veterinaria México*, pp. 10, 221-226.
- Ridler, A. y otros, 2002. Effects of vaginal *Brucella ovis*, infection of red deer hinds on reproductive performance, and venereal transmission to stags. *N Z Vet. J*, pp. 50:126-131.
- Ridler, A., West, D., Stafford, K. & Wilson, P., 2006. Persistence, serodiagnosis and effects on semen characteristics of artificial *Brucella ovis* infection in red deer stags. En: *N Z Vet J*. s.l.:s.n., pp. 54: 85-90.
- Secretaría de Agricultura, G. y. D. R., 1996. *NORMA Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis*. México D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- Simmons, G. & Hall, W., 1953. Epididymitis of rams: Preliminary studies on the occurrence pathogenicity of a *Brucella*-Like organism. *Aust Vet J*, pp. 29: 33-40.
- Torres, E. y otros, 1997. Presencia de anticuerpos contra diferentes especies de *Brucella* en sementales ovinos jóvenes. *Veterinaria México*, pp. 28: 241-245.
- Trezeguet, M. y otros, 2015. *Manual de diagnóstico de Brucella ovis*, s.l.: SENASA.