

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRARIAS

LA EPIDIDIMITIS CONTAGIOSA DEL MORUECO
(INFECCION POR BRUCELLA OVIS)
REVISION BIBLIOGRAFICA

COMUNICACIONES I.N.I.A.
SERIE: HIGIENE Y SANIDAD ANIMAL

N.º 5

1983

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRARIAS



LA EPIDIDIMITIS CONTAGIOSA DEL MORUECO (INFECCION POR
BRUCELLA OVIS) REVISION BIBLIOGRAFICA

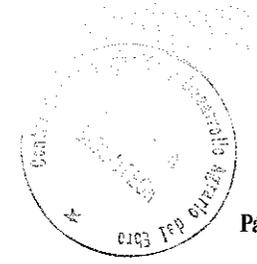
J M^a BLASCO MARTINEZ

Departamento de Producción Animal, Pastos y Forrajes
C.R.I.D.A. 03. Apartado 727 (Zaragoza)

*Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias
José Abascal, 56. Tlfno. 441.31.93. Telex 48989 INIA E
Madrid - 3 (España)*

MADRID-1983

INDICE



	Págs.
1. DEFINICION	5
2. HISTORIA	5
3. ETIOLOGIA	6
3.1. Clasificación	6
3.2. Caracteres culturales y tintoriales	8
3.3. Características generales y propiedades bioquímicas	8
3.4. Poder patógeno	9
3.5. Características antigénicas	10
4. EPIZOOTIOLOGIA	12
4.1. Causas predisponentes	12
4.2. Infección natural	13
4.3. Infección experimental	14
5. CUADRO CLINICO Y LESIONAL	15
5.1. Machos	15
5.2. Hembras	20
6. DIAGNOSTICO	21
6.1. Clínico	21
6.2. Anatomopatológico	21
6.3. Serológico	22
6.4. Alérgico	24
6.5. Bacteriológico	25
6.6. Inmunofluorescencia directa	27
6.7. Examen microscopico de semen	27
6.8. Presencia de anticuerpos en plasma seminal	28
6.9. Diagnóstico diferencial	28
7. TRATAMIENTO	29
8. PROFILAXIS	29
8.1. Sanitaria	29
8.2. Médica (vacunación)	30
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32

Depósito Legal: M - 38118 1983

I. S. B. N.: 84-7498-164-6 — I. S. S. N.: 0211-1314

Imprime: Gráf. Maravillas, S. L. — Madrid-29

LA EPIDIDIMITIS CONTAGIOSA DEL MORUECO (INFECCION POR BRUCELLA OVIS) REVISION BIBLIOGRAFICA

J M^a BLASCO MARTINEZ

Departamento de Producción Animal, Pastos y Forrajes
C.R.I.D.A. 03 Apartado 727 (Zaragoza)



1. DEFINICION

La infección por *Brucella ovis*, también denominada epididimitis infecciosa o contagiosa del morueco, es una enfermedad infecto-contagiosa, que afecta de forma natural exclusivamente a la especie ovina, caracterizada por provocar inflamación del epidídimo, con la consiguiente disminución de la fertilidad de los moruecos afectados, y abortos tardíos en las hembras, o bien un aumento de la mortalidad perinatal.

2. HISTORIA

Numerosos trabajos hacen referencia al aislamiento de *B. ovis* a partir de epidídimo, glándulas genitales anexas, semen y membranas fetales de animales de la especie ovina.

En 1952 Mc FARLANE *et al.* (118) aislaron, a partir de animales afectados de epididimitis, un microorganismo de morfología bacilar a cocobacilar, gram-negativo que, inoculado experimentalmente por vías intravenosa o prepucial, determinaba lesiones genitales en el morueco. Este organismo, es descrito por primera vez en Australia en 1953 por SIMMONS y HALL (166) denominándolo B.L.O. (*Brucella like organism*) y, en el mismo año, en Nueva Zelanda por BUDDLE y BOYES (28), aproximándolo a una cepa mutante de *Brucella melitensis*.

JEBSON *et al.* (1954) (95) y HARTLEY *et al.* (1955) (82), mediante inoculaciones experimentales de cultivos de B.L.O. provocan abortos en ovejas y lesiones de epididimitis en moruecos.

La infección también ha sido descrita en numerosos países: Checoslovaquia (72), U.S.A. (119), Sudáfrica (180), Rumanía (177), Argentina (175), Perú (127), Uruguay (36), Chile (ALEGRIA, 1968, cit por ZAMORA *et al.*, (1971 a) (194)) Alemania (BEHRENS y BADER, 1969, cit. BEHRENS (1979) (13), Francia (75), Brasil (21) y México (142).

En España, BLASCO *et al.* (1981) (19), basados en los resultados del estudio serológico de algunos moruecos, pertenecientes a dos ganaderías del Valle del Ebro, que presentaban lesiones de epididimitis, comunicaron la sospecha de la existencia de casos de infecciones por *B. ovis*. La existencia de dicha infección ha sido posteriormente

confirmada mediante el aislamiento microbiológico de *B. ovis* a partir de semen de moruecos que presentaban serología positiva frente a un antígeno de *B. ovis* (20).

En 1956, BUDDLE (30) propuso las denominaciones de "*Brucella ovis*" como nueva especie o "*Brucella brucei* var. *ovis australasiae*" como una nueva variedad y a la enfermedad que produce la denomina "Epididimitis infecciosa ovina"

3. ETIOLOGIA

Las características microbiológicas de *B. ovis* son las siguientes:

3.1. Clasificación

El microorganismo aislado en 1953 por SIMMONS y HALL (166) fue considerado por BUDDLE y BOYES (1953) (27) como una cepa mutante estabilizada de *B. melitensis*. BUDDLE (1955) (29) lo denomina *B. ovis* en base a que presentaba antígenos comunes con cepas rugosas de *B. abortus* y *B. melitensis*, aunque no poseía los antígenos A y M propios de las cepas lisas. Algunos autores (124) lo aproximan al género *Neisseria* en base a su parecida actividad metabólica y otros (104), lo aproximan al género *Haemophilus* en base a sus características comunes.

En 1962 y 1966, el Subcomité de Taxonomía del género *Brucella*, rehusó admitir este organismo dentro del género *Brucella* (96). DIAZ *et al.* (1968 b) (50) encuentran reacciones cruzadas entre antígenos solubles de *B. ovis* y *B. melitensis*, por lo que recomiendan incluirlo dentro del género *Brucella*. HOYER y Mc CULLOUGH (1968) (87) encuentran que el DNA de *B. ovis* carece de algunas secuencias de polinucleótidos presentes en el DNA de *B. suis*, aunque el 94 p 100 de sus secuencias de polinucleótidos son similares a otras especies del género por lo que recomiendan también la inclusión de este organismo dentro del mismo. Aunque la denominación de *B. ovis* parece tener aceptación general, lo cierto es que a este microorganismo se le sigue denominando B.L.O. y R.E.O. (Ram Epididymitis Organism) (125).

Algunos autores opinan que *B. ovis* puede ser una forma revertiente alterada de *B. abortus* biotipo 2 (126).

El Subcomité de Taxonomía de la Asociación Internacional de Sociedades Microbiológicas en 1970, incluye este germen dentro del género *Brucella* (2).

En el Cuadro 1, preparado por el citado Subcomité, se resumen los caracteres diferenciales de las seis especies del género y de sus biotipos. La clasificación exacta del género *Brucella* en sus biotipos es sumamente útil para estudios epidemiológicos.

CUADRO 1
CARACTERES DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DEL GENERO *BRUCELLA* Y SUS BIOTIPOS (AL TON *et al.* 1976)

Especie	Biotipo	Necesidad de CO ₂	Producción de H ₂ S	Actividad ureásica	Pruebas bioquímicas							Lisis por fagos Tb ^c 10.000 x DPO DPO	Reservorios más frecuentes		
					Cultivo de colorantes					Aglutinación con sueros ^b					
					Tionina		Fucsina básica			A	M			R	
					a	b	c	b	c	A	M			R	
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	Variable	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Cabra oveja
	2	-	-	Variable	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Cabra oveja
	3	-	-	Variable	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Cabra oveja
<i>B. abortus</i>	1	+(-) ^d	+	1-2 h ^e	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	2f	+	+	1-2 h	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	3	+(-)	+	1-2 h	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	4	+(-)	+	1-2 h	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	5	-	-	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	6	-	-0+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	7	-	-0+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	8	+	-	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
	9	-0+	+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Ganado vacuno
<i>B. suis</i>	1	-	++	0-30 min	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Cerdo
	2	-	-	0-30 min	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Cerdo, liebre
	3	-	-	0-30 min	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	Cerdo
	4	-	-	0-30 min	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	Reno (Rangifer tarandi)
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	0-30 min	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	Rata del desierto (Neotoma lepida)
<i>B. ovis</i>	1f	+	-	Negativa	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	Oveja
<i>B. canis</i>	1	-	-	0-30 min	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	Perro

a) La diferenciación de las especies se hace en agar-triptocasa-soja o en agar-triptosa con la siguiente gama de diluciones del colorante: a) 1:25.000; b) 1:50.000; c) 1:100.000. Las pruebas con cepas que requieren CO₂ deben hacerse en una atmósfera enriquecida con ese gas; las demás se realizan en atmósfera normal

b) A = suero monoespecífico abortus; M = suero monoespecífico melitensis; R = suero antibrucelas rugosas

c) Tb = Tbilisi; DPO = dilución para pruebas ordinarias

d) + (-) = prueba generalmente positiva pero pueden encontrarse variedades negativas por ejemplo la cepa 19

e) El biotipo 544 es atípico por carecer de actividad ureásica

f) Para el cultivo de *B. abortus* biotipo 2 y *B. ovis* es preciso añadir 5 p 100 de suero al medio de base



3.2. Caracteres culturales y tintoriales

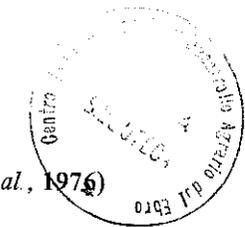
B. ovis es un germen Gramnegativo, de morfología bacilar o cocobacilar, que puede teñirse por el método de Ziehl Neelsen modificado (169).

Crece selectivamente en el medio de IHAYER-MARTIN (176), modificado con Nitrofurantoina y con inhibidor V.C.N. (2, 24); también crece bien en medios a base de Agar-tripticosa-soja, enriquecidos con un 5-10 p 100 de suero ovino (47, 88, 162). Estos medios deben incubarse a 37°C en atmósfera enriquecida con 10-20 p 100 de CO₂. El germen tarda en crecer cuatro días aproximadamente, formando colonias grisáceas circulares, que tienen los bordes enteros y regulares, convexas, de superficie lisa y brillante; el centro de las colonias es opaco y la periferia translúcida y por su morfología es prácticamente imposible distinguirlas de las colonias de especies lisas del género *Brucella* (2).

3.3. Características generales y propiedades bioquímicas (2, 43)

El germen es catalasa positivo y oxidasa negativo. No produce SH₂ ni hidroliza la urea. Requiere CO₂ para crecer. Su crecimiento es inhibido por el Metil Violeta, pero crece en presencia de Fucsina y Tionina a concentraciones estándar. No reduce el nitrato a nitrito. Los cultivos están siempre en fase rugosa en primer aislamiento y una verdadera fase lisa no ocurre nunca. Oxida la L-alanina, D-alanina, L-asparagina, L-ácido glutámico, D y L serina y el adonitol. No oxida la L-arabinosa, D-galactosa, D-glucosa, D-ribosa, mesoeritritol, D-xilosa, L-arginina, D y L citrulina, D y L ornitina ni la L-lisina. Los cultivos no son lisados por los fagos Ib, WB, M-51-S708, Fz, Bk, MC-75, ni por los fagos D y R. Sin embargo, los fagos R/O y R/C son líticos para *B. ovis*. Es sensible "in vitro" a la penicilina, estreptomycin y tetraciclina.

En el Cuadro 2 se resumen las características de las especies del género



CUADRO 2

CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES DE *BRUCELLA*. (ALTON *et al.*, 1976)

	B. abortus	B. suis	B. melitensis	B. ovis	B. neotomae	B. canis
Aglutinación con						
- Suero antibrucelas lisas	+	+	+	--	+	--
- Suero antibrucelas rugosas	--	--	--	+	--	+
Fermentación de lactosa en agar de Mac Conkey	--	--	--	--	--	--
Hemólisis en agar-sangre	--	--	--	--	--	--
Producción de ácido en agar que contiene glucosa	--	--	--	--	--	--
Movilidad a 37°C	--	--	--	--	--	--
Movilidad a 22°C	--	--	--	--	--	--
Oxidasa positiva	+	+	+	--	--	+
Ureasa positiva	+	+	+	--	+	+
Reacción de nitrato	+	+	+	--	+	+
Utilización de citrato	--	--	--	--	--	--

3.4. Poder patógeno.

Parece ser que *B. ovis* no posee un poder patógeno tan elevado como las otras especies del género *Brucella*. El microorganismo parece poseer la capacidad de evitar el efecto antagónico del sistema reticuloendotelial y, aunque las manifestaciones de la infección sean únicamente genitales, puede ser aislado a partir de bazo y otros tejidos, en los que puede no provocar ninguna lesión (100), aunque han sido descritas reacciones de tipo granulomatoso en diversas localizaciones, particularmente en órganos ricos en componentes reticuloendoteliales (18, 164).

En la hembra ovina, al menos en inoculación experimental, se detecta una bacteriemia transitoria o intermitente. Parece ser que una vez diseminado, el germen se localiza en algunos tejidos y se libera periódicamente, posiblemente siguiendo algún disturbio orgánico que favorezca su multiplicación (128). El aborto no es una característica constante de la infección (119). El desarrollo de la infección uterina es lento y la gestación puede no interrumpirse hasta pasados 2 ó 3 meses de producirse el contagio (100).

En inoculación experimental, existe un período de tiempo de 2 a 3 semanas (tanto en moruecos como en ovejas) desde la inoculación hasta la aparición de bacteriemia (100, 128).

La infección debe pasar por una etapa de generalización aunque el proceso nunca es generalizado (93).

La patogénesis de la infección no está totalmente aclarada, aunque se piensa que fundamentalmente puede ser dividida en dos tipos básicos: la que sería debida a septicemia o bacteriemia tras la penetración de *B. ovis* por cualquier vía, a excepción de la genital, y la debida a la infección local ascendente tras el contagio genital (81, 93, 94).

Al igual que otras brucelas, *B. ovis* parece poseer un tropismo por órganos del aparato genital, útero en la hembra y epidídimo y glándulas genitales anexas en el morueco, especialmente vesículas seminales. La explicación del por qué otros órganos glandulares no estén afectados, o lo estén solamente de forma transitoria no es conocida (18).

3.5. Características antigénicas

B. ovis tiene características particulares desde el punto de vista antigénico. Es un germen que aparece siempre en fase de rugosa estable y está desprovisto de los antígenos de superficie característicos de *Brucella* en fase lisa. La técnica de inmunoprecipitación en gel ha permitido caracterizar dos compuestos antigénicos específicos de la fase lisa (S) de las brucelas: el antígeno A + M y el Poly B (52). El antígeno A + M comporta las características de los aglutinógenos A y M (49) y está constituido por un complejo macromolecular de proteínas, lípidos y polisacáridos, siendo responsable de las propiedades endotóxicas atribuidas al género *Brucella* (111), jugando el papel principal en las reacciones de aglutinación estandar, de Coombs y Rosa Bengala (52). El Poly B tiene naturaleza polisacáridica (51) pero su papel biológico no está totalmente aclarado, aunque se sabe que no tiene propiedades tóxicas y que podría comportarse como un hapteno por carecer de poder antigénico aunque los animales infectados por brucelas producen anticuerpos frente a él (53). Las cepas rugosas *B. ovis* y *B. canis* están desprovistas del antígeno A + M y del polisacárido B (52).

Aunque se han observado nulas o pequeñas relaciones en pruebas serológicas de aglutinación, entre antígenos celulares completos de *B. ovis* y de cepas lisas de *Brucella* (48, 124), una extensa reacción serológica cruzada ha sido encontrada en pruebas de aglutinación entre antígenos celulares completos de *B. ovis* y de cepas rugosas de *B. melitensis* (48). Utilizando como antígeno extractos solubles obtenidos por tratamiento ultrasónico de suspensiones de células completas, han sido reveladas reacciones cruzadas en hemoaglutinación indirecta, precipitación en gel y en inmunoelectroforesis, entre *B. ovis* y cepas lisas de *B. melitensis* (48).

Cuando se utilizan antígenos celulares completos en pruebas de aglutinación, se observan reacciones serológicas cruzadas de cepas rugosas de *B. abortus* y de *B. melitensis* con *B. canis* y *B. ovis* (50). También han sido reveladas relaciones antigénicas entre *B. ovis*, *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* en pruebas de fijación de complemento, utilizando antígenos solubles (143, 192).

Después del tratamiento ultrasónico de las brucelas, se obtienen unas preparaciones ricas en proteínas. Utilizando como antígeno estos extractos protéicos en pruebas de precipitación en gel, no han sido constatadas diferencias entre los extractos provenientes de las cepas rugosas y los de las cepas lisas de *Brucella*. Estos antígenos protéicos son, en su mayoría, comunes para las cepas lisas y para las cepas rugosas *B. ovis*, *B. canis*, *B. melitensis cepa 115* y *B. abortus 45/20* (50, 132).

Un antígeno de superficie de naturaleza lipopolisacáridica, denominado antígeno R, ha sido obtenido de brucelas en fase rugosa (54, 132). Este antígeno R es específico de las brucelas en fase rugosa (R) y no produce reacciones cruzadas con brucelas en fase lisa (S) o con enterobacterias (59, 134).

B. ovis y las brucelas en fase R poseen determinantes antigénicos comunes (73), pero el antígeno R extraído de *B. ovis* presenta determinantes antigénicos específicos de esta cepa (54).

B. ovis es una cepa rugosa estable que mantiene sus características antigénicas tras haber sido pasada varias veces por cultivos, cobayas y ganado ovino (138).

La comparación serológica por inmunodifusión, inmunoelectroforesis y fijación del complemento, no muestra diferencias entre cepas de origen geográfico diferente (162).

En las pruebas serológicas de inmunodifusión y fijación del complemento, la actividad serológica entre los 12 y 412 días post-infección queda restringida a la fracción G de la Inmunoglobulinas (Ig G) (132).

4. EPIZOOTIOLOGIA

4.1. Causas predisponentes

4.1.1. Especie

En forma natural, parece ser que la especie ovina es la única afectada. Como veremos más adelante, la infección experimental se ha conseguido en machos cabríos (68) y en animales de laboratorio (28, 30, 46, 155, 157, 158, 166).

En la especie humana han sido halladas reacciones serológicas positivas (71), pero ninguna infección ha sido citada.

4.1.2. Edad

Se ha discutido mucho sobre la influencia de la edad en la receptividad a la infección por *B. ovis*. Para algunos, los animales jóvenes serían los más sensibles (162, 180). La infección se ha demostrado en jóvenes moruecos que nunca habían cubierto (76), pero la mayor parte de los autores estiman que, aceptando la genital como principal vía de infección, los moruecos adultos estarían más expuestos. La incidencia de alteraciones clínicas detectables por palpación aumenta con la edad de los moruecos (130)

4.1.3. Sexo

La hembra ovina es susceptible a la enfermedad, sin embargo la infección natural en la misma, presenta un carácter más esporádico que en el morueco (128, 162). Los abortos no son una característica constante (75, 119) aunque la mortalidad perinatal es más elevada de lo normal (13, 30, 84, 122, 151)

4.1.4. Raza

Ha sido citado por varios australianos que la raza Merina presenta menor susceptibilidad a la infección que las razas inglesas (66, 80, 185, 186).

Otros autores también han encontrado esta diferente susceptibilidad racial (34, 168, 180).

BROWN *et al.* (1973)(25), mediante inoculación experimental obtienen mayor resistencia a la infección en moruecos Rambouillet que en los de raza Targhee y Columbia

Por lo tanto, parece ser que existen diferencias de susceptibilidad a la infección por *B. ovis* según las razas, pero esta diferente susceptibilidad racial no ha sido bien aclarada y lo cierto es que *B. ovis* ha sido aislada de moruecos de numerosas razas tales como la Merina, Suffolk, Fleischschaf, Ile de France y Romanov (BLASCO, 1982 datos no publicados).

4.2. Infección natural

La enfermedad afecta en forma natural exclusivamente a la especie ovina

Hay numerosas referencias bibliográficas, a menudo discordantes, sobre la transmisión de la infección. Posiblemente existan numerosas formas de transmisión, al igual que ocurre con las demás brucelas, pero la mayor parte de los autores estiman que la más frecuente es la genital (29, 83, 110, 128, 135, 162). Así, los moruecos infectados eliminarían *B. ovis* por el semen y diseminarian el germen entre las hembras que cubriesen. Como las hembras suelen ser cubiertas varias veces por diferentes moruecos, los moruecos sanos que las cubriesen de nuevo, podrían quedar infectados. Una infección activa ha sido descrita en hembras cubiertas por moruecos con infección natural (29), aunque esta vía de contagio en hembras parece ser poco frecuente (110)

Además de la vía genital han sido citadas infecciones transmitidas por vía oral y a través de diversas mucosas (13, 184). La infección por consumo de pasto puede ser posible debido a que *B. ovis* puede ser eliminada por la orina de animales infectados (28) y contaminar el pasto, en el que en determinadas condiciones puede sobrevivir durante varios meses (84).

Un rápido contagio por contacto con moruecos adultos infectados ha sido citado en moruecos jóvenes que nunca habían cubierto (40, 76), afectando con más frecuencia a aquellos animales que se dejan montar por otros. En los actuales sistemas de producción ovina, que conllevan a menudo la convivencia de los moruecos durante largos períodos de tiempo, la difusión de la infección se realiza fundamentalmente de morueco a morueco vía oral y también por sus relaciones homosexuales (25, 64, 81, 184).

La infección natural ha sido demostrada en moruecos vasectomizados (40) que, por lo tanto, pueden intervenir en la difusión del proceso al eliminar *B. ovis* por la secreción de las vesículas seminales

Es posible que la infección congénita pueda ocurrir, al menos en un bajo porcentaje de corderos (90, 184)

Las vías de contagio natural no son bien conocidas en la hembra. Se sabe que, solamente las ovejas contagiadas durante un mismo período de gestación llegarán a abortar y ya no intervendrán en la difusión del proceso en la siguiente gestación



(83, 151, 160), aunque han sido citados casos de persistencia de infección (6, 29).

La infección es, aparentemente, menos persistente en ovejas que en moruecos, ya que muchos de éstos pueden ser capaces de secretar semen infectado durante más de 4 años (30)

4.3. Infección experimental.

En la especie ovina, la infección se ha conseguido reproducir experimentalmente mediante inoculación de gérmenes virulentos por vía oral (166), por vía intravenosa (25, 28, 32, 151), por heridas de esquileo (40), por escarificación en la mucosa vaginal (128), por vía conjuntival (25, 57, 98), por diferentes membranas mucosas (110), por vía intratesticular (28), por escarificación en la mucosa prepucial (35), y también colocando una suspensión de gérmenes virulentos en la cavidad prepucial, manteniendo luego cerrado el prepucio durante 5 minutos (187). No se han encontrado diferencias en la tasa de infección, entre las inoculaciones vía conjuntival y prepucial (68).

La inoculación parenteral de gérmenes virulentos provoca abortos en hembras gestantes (123) o una elevada mortalidad perinatal (151).

La infección experimental ha sido lograda en machos cabríos por vías prepucial y conjuntival, lográndose una mayor tasa de infección por vía conjuntival (68). La infección en machos cabríos, inoculados vía conjuntival, es de naturaleza transitoria y no tiene significado epidemiológico (69)

BUDDLE y BOYES (1953)(28) inocularon dos vacas preñadas por vía intravenosa, sin observar ninguna evidencia de infección aunque *B. ovis* fue aislada de la secreción láctea de una de ellas.

Los animales de laboratorio son sensibles a la inoculación experimental. Por inoculación intraperitoneal en el cobaya se ha observado que el microorganismo persiste y puede ser aislado del bazo durante 50-70 días después de la inoculación (28, 29, 104, 166).

La inoculación a cobayas por vía intramuscular, intraperitoneal o intratesticular, no produce altos títulos en aglutinación o fijación del complemento, aunque *B. ovis* puede ser aislada de ganglios linfáticos y bazo de algunos animales hasta 3 meses después de la inoculación (155, 157)

La inoculación intraperitoneal en ratón, produjo una infección generalizada y la bacteria pudo ser aislada después de pasados 85 días desde la inoculación en bazo, pulmón, hígado, riñón y en el útero de hembras gestantes (158)

Por inoculación intravenosa, el conejo generalmente no manifiesta alteraciones macroscópicas (46), aunque han sido citados casos de necrosis testicular y de epididimitis aguda (30)

La inoculación intratesticular en ratón, hamster, rata, cobaya y jerbo (*Meriones unguiculatus*) solamente produjo alteraciones macroscópicas de epididimitis en la rata y en el jerbo, muy ostensibles al 4^o mes de la inoculación, mientras que los demás órganos eran aparentemente normales. Las alteraciones microscópicas fueron evidentes en el jerbo, ratón, rata y cobaya pero sobre todo en el jerbo, localizadas a nivel del epididimo y del hígado (46).

En infección experimental de moruecos, la dinámica de las inmunoglobulinas M (Ig M) e IgG es la siguiente: las IgM aparecen primero al 3^o - 5^o día de la inoculación y alcanzan la proporción máxima el día 19. Las IgG aparecen en pequeña proporción a los 5 - 7 días de la inoculación y van aumentando gradualmente igualándose las concentraciones de ambas inmunoglobulinas alrededor del día 57 tras la inoculación (115).

5. CUADRO CLINICO Y LESIONAL

La infección por *B. ovis* cursa con sintomatología y lesiones muy dispares en machos y hembras, por lo que las estudiaremos por separado

5.1. Machos

5.1.1. Clínica

El periodo de incubación en infección natural no está todavía bien determinado. GARCIA-CARRILLO *et al.* (1974)(68) observaron que el periodo de incubación en infección experimental en caprino era de 7 meses. Algunos autores hallaron las primeras lesiones a las 6 - 8 semanas de la infección experimental en ovinos (18, 35), mientras que otros las observaron a las 4 semanas de la inoculación experimental (98, 187).

El hecho más destacable y que primero llama la atención, es la disminución de la fertilidad global, aunque en algunos rebaños permanezca aceptable, ya que la falta de fertilidad de algunos moruecos es compensada por los machos sanos (19, 76).

En algunos rebaños la infección puede permanecer solapada, ya que algunos moruecos infectados pueden ser fértiles preferentemente si la lesión es unilateral (6, 19, 35, 162), y la reducción de la fertilidad global del rebaño puede no ser importante (144)



En la fase inicial de la enfermedad puede haber fiebre (41,7°C), mal estado general y anorexia (164). La libido puede estar disminuida. En condiciones de campo, estos síntomas suelen pasar desapercibidos. A excepción de algún caso de neumonía (95), la infección por *B. ovis* ha sido siempre asociada a alteraciones en el tracto reproductivo.

Parece ser que la Epididimitis infecciosa comienza con una inflamación del epidídimo, generalmente unilateral. A la palpación, el epidídimo aparece aumentado de tamaño e indurado preferentemente en la región de la cola, aunque también puede apreciarse la alteración en la cabeza. Las alteraciones en el cuerpo del epidídimo, aunque existan, son raramente percibidas a la palpación (76).

Algunos autores (34), sugieren que la infección podría comenzar por una orquitis aguda, basando su suposición en que algunos moruecos infectados presentan anomalías en la morfología de los espermatozoides en ausencia de lesión epididimaria. Otros (100) opinan que la alteración inicial no es una orquitis aguda, sino una epididimitis y posteriormente puede existir una degeneración testicular secundaria.

La localización de las alteraciones es unilateral en la mayoría de los casos (100). Sin embargo, CAMERON y LAUERMAN (1976) (35) hallaron alteraciones bilaterales en el 80 p. 100 de los casos, y BADIOLA *et al.* (1981) (5) encontraron igual cantidad de alteraciones unilaterales y bilaterales.

La región de la cola del epidídimo es la más frecuentemente afectada (13, 18, 75, 100, 104, 159, 186).

En fases avanzadas de la infección, la palpación minuciosa del contenido escrotal permite observar un aumento de tamaño y consistencia del epidídimo, en alguna o todas sus regiones y dificultad para desplazar el testículo dentro de la bolsa escrotal.

Las vesículas seminales y glándulas bulbouretrales pueden estar afectadas pero no es posible detectarlo por palpación. Los ganglios linfáticos inguinales pueden aparecer aumentados a la palpación.

Algunos animales infectados pueden pasar desapercibidos, debido a que no presentan alteraciones detectables por palpación (16, 75, 88, 98, 122, 162, 186, 187).

En moruecos infectados experimentalmente con *B. ovis*, se aprecia una gamma-globulinemia en correlación positiva con las modificaciones morfológicas del testículo. Las alfa globulinas aumentan inmediatamente

después de la inoculación, se mantienen altas durante 1 mes y después recobran sus valores normales. La actividad de la fosfatasa alcalina, aldolasa, GOI y GIP presenta modificaciones transitorias, pero sin valor diagnóstico (56).

5.1.2. Lesiones

A. Macroscópicas

Tras la apertura de las bolsas escrotales, las túnicas vaginales suelen aparecer engrosadas, fibrosas y con extensas adherencias entre la capa visceral y la parietal. El epidídimo se halla aumentado de tamaño, deformado y con consistencia dura. Este tipo de lesión puede afectar a una o varias regiones del epidídimo, aunque la localización preferente es la cola (75, 100, 186).

En el estudio realizado por GIAUFFRET *et al.*, (1972) (75) el examen post-mortem de las bolsas escrotales demostró que el 29 p. 100 de los cuerpos de los epidídimos estaban afectados, mientras que sólo un 4 p. 100 había sido diagnosticado clínicamente por palpación ante-mortem.

El epidídimo puede presentar espermatoceles y abscesos, generalmente contaminados por gérmenes secundarios, originando hipertrofia e incluso deformación (76). Los espermatoceles pueden dar lugar a granulomas espermáticos.

A la sección, las zonas afectadas del epidídimo aparecen con aspecto esclerótico y presentan cavidades de tamaño variable llenas de un contenido denso de color marrón (quistes espermáticos).

La albugínea testicular aparece engrosada y fibrosa, principalmente en las zonas del testículo que aparecen lesionadas. Los testículos pueden sufrir una inflamación inicial y luego atrofiarse o calcificarse. También ha sido descrita la presencia de hidroceles en animales infectados (165).

En las fases terminales puede aparecer una esclerosis y atrofia testicular de forma que el epidídimo lesionado ocupa mayor volumen que el testículo atrofiado (76, 162).

A la sección, el testículo suele aparecer disminuido de tamaño, pero con aspecto normal. En ocasiones se observan focos necróticos bien delimitados en el testículo que al cicatrizar disminuirán el tamaño del órgano, dando lugar a la atrofia fibrosa.



La observación macroscópica de las vesículas seminales y glándulas bulbouretrales no da una imagen típica de lesión, a lo sumo se aprecia un ligero engrosamiento. Los ganglios linfáticos ilíacos pueden aparecer hipertrofiados, congestivos y edematosos.

También ha sido observado un engrosamiento y edema inflamatorio del cordón espermático, así como la extensión de las lesiones a otros órganos extragenitales como bazo, hígado y glándulas, en los casos de infección hematógena (165).

B. Microscópicas

La secuencia de producción de las lesiones comienza con un edema perivascular e infiltración linfocitaria de la cola del epidídimo y de los vasos adyacentes a las membranas basales del epitelio tubular. A continuación, aparecen neutrófilos integrando el exudado anterior. En una tercera fase hay hiperplasia papilar y degeneración hidrópica del epitelio tubular que origina la formación de quistes intraepiteliales y, en el caso de que la invasión por *B. ovis* sea masiva, se produce destrucción del epitelio. Simultáneamente se produce fibrosis y cicatrización del tejido intersticial, que junto con la alteración epitelial anterior dan lugar a la obstrucción de la luz tubular y al estasis de su contenido (Espermatocele). Si el epitelio tubular se destruye, se extravasa el esperma originando "granulomas espermáticos". Si el esperma extravasado llega a la cavidad de la túnica vaginal origina una inflamación que dará lugar a adherencias. No hay orquitis primaria, pero sí degeneración testicular secundaria con estasis en túbulos seminíferos (por obstrucción del epidídimo), calcificación, granulomas espermáticos generalmente microscópicos, y fibrosis (100, 104, 106).

También se han descrito fenómenos de metaplasia en el epitelio de los conductos del epidídimo y áreas calcificadas en los granulomas espermáticos (5).

SHERGIN *et al.*, (1974) (164) hallaron en testículos de animales infectados edema, infiltración linfocitaria, hemorragias focales, destrucción del epitelio germinal y obstrucción de túbulos por restos celulares y fibrina.

También se han encontrado anomalías graves de la espermatogénesis, más frecuentemente en infección natural que en infección experimental (76).

Las vesículas seminales de los moruecos afectados presentan una inflamación caracterizada por la presencia de un infiltrado linfoplasmato-



citario en los tabiques conjuntivos. Las luces glandulares aparecen dilatadas y ocupadas por un material eosinófilo, leucocitos y células descamadas. Las glándulas bulbouretrales no presentan ningún tipo de lesión (5).

C. Ultraestructurales

El epidídimo presenta una degeneración de la membrana basal tubular y hemorragias, con presencia de leucocitos y *B. ovis* en la luz de los túbulos del epidídimo. En el testículo, la sustancia nuclear de las espermatogonias y espermaticitos muestra una estructura alterada, tanto el núcleo como el citoplasma están vacuolizados y las membranas nuclear y celular aparecen rotas. Además, se observan espermátidas y espermatozoides decapitados, autofagocitosis de espermatozoides y brucelas fagocitadas por los leucocitos (7, 9, 10).

5.1.3. Modificaciones seminales

Una degeneración seminal ha sido demostrada en animales infectados experimentalmente (35, 95) y en animales con infección natural (34, 65, 120).

Los moruecos infectados por *B. ovis* pueden presentar una disminución del número de espermatozoides, llegando incluso, a la azoospermia, con aumento del número de espermatozoides anormales y de células inflamatorias, junto con una disminución de la motilidad (34, 35, 65).

Además, ha sido observada una disminución del volumen del eyaculado en animales inoculados experimentalmente (35), y en animales con infección natural (4).

Las anomalías más frecuentemente observadas en los espermatozoides de los animales infectados son de tipo secundario (decapitados, laceados y enrollados) (35, 65). Tales anomalías secundarias se producen por las condiciones anormales del epidídimo (22, 79, 154, 172).

La disminución de la motilidad se debe a la alteración del medio epididimario (137).

En la observación a microscopía electrónica del semen de carneros afectados de epididimitis infecciosa, se aprecia que la mayoría de las lesiones aparecen localizadas en la cabeza de los espermatozoides. Son visibles desprendimiento y rotura del pasmalema, separación del acrosoma, hinchazón de la membrana nuclear, granulación y desintegración de la membrana nuclear, debilidad de la unión entre cabeza y cuerpo y en

ocasiones separación completa. Los leucocitos presentes en el semen presentan actividad fagocitaria frente a los espermatozoides (7, 9).

La actividad colinesterasa del semen en carneros afectados, se reduce a la cuarta parte de lo normal, asociándolo con un alto porcentaje de espermatozoides anormales y con un aumento de pH (de 6,81 a 7,83) (8).

5.2. Hembras

5.2.1. Clínica

La infección natural por *Brucella ovis* en las ovejas, presenta un carácter esporádico, y puede manifestarse por abortos y reabsorción embrionaria (30, 75, 88, 128, 162).

La mayoría de los corderos nacen vivos, aunque pueden aparecer fetos momificados (100), y hay un aumento de la mortalidad perinatal, o bien falta de vitalidad en los recién nacidos (13, 75, 84, 122). El peso al nacimiento de los corderos hijos de hembras infectadas está considerablemente disminuido (89).

Los abortos no son una característica constante de esta infección (75, 119). El desarrollo de la infección uterina es lento y la gestación puede no interrumpirse hasta 2-3 meses después de la infección (100).

La inoculación experimental en hembras gestantes solo provoca abortos en una pequeña parte de las ovejas (123).

La mayor parte de los autores están de acuerdo en que la incidencia de abortos en condiciones de campo debe ser baja.

5.2.2. Lesiones

En hembras que entran en contacto con *B. ovis* por primera vez se observa una cervico-vaginitis mucopurulenta transitoria, salpingitis y endometritis que pueden originar la reabsorción fetal y/o esterilidad (75). También se han descrito necrosis de membranas y cotiledones fetales y exudados purulentos en el corion (105, 110).

La placenta presenta un gran edema, periarteritis y arteritis. El amnios se encuentra adherido al corioalantoides y engrosado en placas. Los cotiledones están aumentados de tamaño y consistencia y tienen color blanquecino. Los fetos abortados aparecen edematosos y mezclados con sangre y fibrina. Son características las placas calcificadas en las pezuñas y dedos accesorios. Los fetos pueden presentar neumonía y linfadenitis (100).

Microscópicamente, se observa necrosis epitelial de los cotiledones, con edema e infiltrado celular del estroma. Las células epiteliales del corion contienen abundantes microorganismos. Los ganglios linfáticos de los fetos abortados presentan desarrollo de centros germinales y presencia de células plasmáticas en ganglios y bazo. Son corrientes las nefritis intersticiales agudas (100).

En los casos leves se produce una endometritis con infiltrados focales o difusos y en los graves una endometritis necrótica purulenta (106).

6. DIAGNOSTICO

6.1. Clínico

La palpación del contenido escrotal, fue adoptada como una técnica para la detección de moruecos infértiles (45) y fue utilizada para el control de la infección por *B. ovis* (139, 186). Este método detecta los cambios patológicos que disminuyen o anulan la fertilidad, es barato, no requiere especial preparación y da resultados inmediatos. No obstante, el examen clínico del contenido escrotal no tiene valor para el diagnóstico de la infección por *B. ovis* debido a que:

- 1) Puede ocurrir que existan animales infectados y que no estén clínicamente afectados (16, 75, 88, 103, 122, 130, 173, 186, 187)
- 2) Las lesiones de epididimitis hayan regresado al estado crónico, en el que pueden no ser detectables por palpación (187)
- 3) Existe un elevado número de causas, infecciosas o no, capaces de originar lesiones de epididimitis, como ya citaremos en el capítulo de Diagnóstico diferencial

6.2. Anatomopatológico

6.2.1. Macroscópico

Se aprecia un engrosamiento de las tunicas vaginales testiculares, a veces con fibrosis y adherencias. Existe un aumento de tamaño y consistencia del epidídimo, en una o más de sus regiones, preferentemente en la cola (5, 100).

A la sección, el epidídimo presenta un aspecto fibroso y cavidades de tamaño variable con un contenido denso de color marrón. En fases tardías, puede observarse atrofia y esclerosis testicular e incluso focos necróticos que pueden cicatrizar o calcificarse (5, 100).



6.2.2. Microscópico

En el epidídimo puede observarse hiperplasia epitelial con formación de quistes intraepiteliales, fibrosis intersticial, obstrucción tubular, granulomas espermáticos intratesticulares junto con alguna calcificación (18, 104).

En las vesículas seminales se aprecia una inflamación linfoplasmocitaria de los tabiques, con dilatación de las luces glandulares (5)

Todas estas lesiones han sido descritas como típicas de la infección por *B. ovis* pero también pueden ser características de otras infecciones genitales (93).

Tanto en moruecos como en hembras abortadas, no existe ninguna lesión patognomónica por lo que el diagnóstico anatomopatológico sólo puede tener valor orientativo

6.3. Serológico

El diagnóstico de la infección por *B. ovis* puede hacerse poniendo en evidencia anticuerpos específicos mediante pruebas serológicas de aglutinación (30, 48), hemoaglutinación indirecta (48, 148, 149, 156, 187), inhibición de la aglutinación (183), inmunofluorescencia indirecta (44), inmunodifusión (14, 15, 44, 54, 74, 98, 113, 131, 133, 141, 145, 161), contraelectroforesis (134), fijación del complemento (15, 16, 39, 44, 81, 86, 98, 117, 131, 136, 141, 145, 146, 152, 163, 174, 187, 188) y mediante la técnica E.L.I.S.A. (58).

A excepción de la inmunodifusión y de la fijación del complemento las demás técnicas no han sido utilizadas a gran escala, por lo que nos centraremos únicamente en ellas

6.3.1. Fijación del complemento

Es la técnica más usada para el diagnóstico serológico de la infección por *B. ovis*

La especificidad de la reacción depende fundamentalmente del modo de extracción del antígeno. Los antígenos totales, extraídos por tratamiento ultrasónico, dan reacciones cruzadas con otras brucelas (48, 53, 132)

La utilización de antígenos celulares completos, puede originar reacciones cruzadas de *B. ovis* con cepas rugosas (50) y en menor grado con cepas lisas de *Brucella* (48).

La utilización de antígenos solubles obtenidos por calentamiento y posterior centrifugación de suspensiones salinas de *B. ovis*, mejora notablemente la especificidad de la reacción ya que las reacciones cruzadas quedan limitadas prácticamente a *B. abortus* 45/20 y *B. canis* (162)

Hay un gran número de variaciones en la realización de la prueba ya que pueden utilizarse macrométodos en tubo y micrométodos en placa, con fijación "en frío" o con fijación "en caliente". La fijación "en frío" (suero, complemento y antígeno se mantienen 1 noche a 4°C) da mejores resultados que la fijación "en caliente", ya que en esta última es frecuente la aparición de fenómenos de zona (prozona) (2).

Para el diagnóstico de esta infección puede utilizarse el método compuesto de fijación, con sus variantes macro y microtécnica, y el método de Hill modificado (2). Una microtécnica de fijación del complemento ha sido puesta a punto en Francia, obteniendo mejores resultados que con la técnica de referencia en tubos (163)

En Nueva Zelanda ha sido puesta a punto (188) una técnica automática de fijación del complemento que describiremos por su curiosidad. La muestra de suero es tomada automáticamente, los diversos componentes de la reacción se agregan del mismo modo y se evita la mezcla de muestras sucesivas mediante la introducción periódica de burbujas de aire. El grado de hemólisis se mide en un colorímetro que traduce el resultado en forma de gráficas trazadas en un aparato inscriptor. La interpretación del test automático está basada en la comparación de la densidad óptica que da el suero problema con la que da un suero positivo estandar que da una hemólisis del 50 p. 100 a una dilución de 1/10. Todas las muestras que den una densidad óptica detectable menor que la del suero positivo estandar son consideradas sospechosas y repetidas de nuevo (136)

La ventaja de esta prueba automática es que permite la realización de un gran número de muestras con gran ahorro de mano de obra y tiempo. El inconveniente principal desde el punto de vista técnico es que el uso de la fijación "en frío" no es compatible con esta técnica automática, con lo que la sensibilidad es algo menor (136)

El significado de cualquier prueba serológica en la infección por *B. ovis* es difícil de evaluar debido a que pueden existir animales infectados con serología negativa (44, 81, 88, 186, 187) y también pueden ocurrir reacciones falsamente positivas (160, 186, 187, 190). A pesar de ello, esta técnica es lo suficientemente fiable para ser utilizada como prueba base en los programas de erradicación, siendo necesario repetirla periódicamente en aquellos rebaños infectados, especialmente después de la estación de cubrición (88, 186, 190).

6.3.2. Inmunodifusión

Una adaptación del método Ouchterlony (140) de difusión en gel de agar ha sido realizada por MYERS y SINIUK (1970) (131) para el diagnóstico de la infección por *B. ovis*, obteniendo una elevada correlación con los resultados de la fijación del complemento.

Utilizando antígeno R (54, 132), la prueba de inmunodifusión es muy sensible para el diagnóstico de esta infección ya que las reacciones cruzadas quedarían limitadas a aquellos animales infectados o vacunados con cepas rugosas de *Brucella* que posean el antígeno R en su superficie (161).

El valor diagnóstico de la técnica de inmunodifusión ha sido comparado con el de la prueba de fijación del complemento y de otras pruebas serológicas con excelentes resultados (15, 98, 129, 133, 134), aunque otros autores citan que la difusión en gel es menos sensible que la fijación del complemento (44, 145).

Las ventajas de esta técnica en relación a la fijación del complemento son su menor coste, menor complicación, menor necesidad de capacitación para realizarla y mayor posibilidad para utilizarla en condiciones de campo en laboratorios poco dotados de material. El inconveniente principal es que la inmunodifusión no está estandarizada y sus resultados sólo pueden considerarse con carácter cualitativo. Este inconveniente no parece tener gran importancia en base a que la inmunodifusión es tan fiable como la fijación del complemento y mucho más sencilla (98).

Los anticuerpos fijadores del complemento y los precipitantes, están presentes en las Inmunoglobulinas G (IgG) (132), lo que puede explicar, en parte, la correlación entre las pruebas de fijación del complemento y las de Inmunodifusión (133).

Para las campañas de lucha y erradicación pueden emplearse ambas pruebas indistintamente, pero si son utilizadas conjuntamente detectan mayor número de animales positivos que si se utiliza sólo una de ellas (15, 98, 133, 134, 141).

6.4. Alérgico

La analogía de la hipersensibilidad frente a *Brucella* con la sensibilidad a la tuberculina inspiró el empleo de las pruebas alérgicas como técnica diagnóstica. Una reacción alérgica positiva con un alérgeno brucelósico normalizado (97) indica que ha existido una invasión de los tejidos por brucelas, pero no prueba la existencia de enfermedad activa. Los animales pueden conservar la sensibilidad durante largo tiempo después de desaparecer los síntomas clínicos. La sensibili-

dad puede adquirirse tanto por brucelosis sintomáticas como subclínicas. Una prueba negativa de la alergia no demuestra que el individuo no esté infectado (2).

Las pruebas alérgicas utilizando extractos antigénicos obtenidos por calentamiento de suspensiones de *B. ovis*, han sido citadas como efectivas para el diagnóstico de esta infección (37, 91, 170).

Una prueba alérgica utilizando un alérgeno exento de antígeno rugoso, obtenido de *B. melitensis* 115 (97), ha sido investigada en moruecos infectados experimentalmente (98). La inoculación del alérgeno se hizo por vía intrapalpebral, en la 4ª, 10ª y 15ª semanas después de la infección experimental. Los resultados obtenidos indicaban que el alérgeno protéico obtenido de *B. melitensis* 115, originaba reacciones de hipersensibilidad retardada en carneros infectados con *B. ovis* y que no se había observado ninguna correlación entre la reacción alérgica y la detección de la infección mediante pruebas clínicas, bacteriológicas y serológicas.

Al igual que ocurre en la infección por *B. melitensis* en ganado ovino, los animales que excretan *B. ovis* pueden dar resultado negativo en las pruebas alérgicas, mientras que los animales con infección subclínica pueden ser positivos (98).

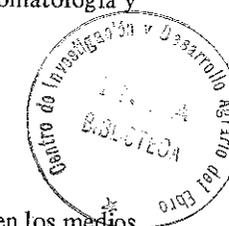
Las pruebas alérgicas no tienen valor para el diagnóstico individual de la infección, pero pueden ser muy valiosas para la detección de rebaños infectados y para confirmar rebaños exentos de infección. En cualquier caso, para interpretar una prueba alérgica es preciso tener en cuenta los antecedentes, la sintomatología y los resultados de las pruebas serológicas (2, 98).

6.5. Bacteriológico

6.5.1. En animales vivos

A partir de muestras de semen, el germen puede ser aislado en los medios de cultivo citados en el Capítulo Etiología e identificado por las pruebas bioquímicas igualmente citadas en dicho Capítulo. Las muestras de semen pueden obtenerse mediante un electroeyaculador, teniendo la precaución de limpiar y desinfectar el prepucio para evitar al máximo la contaminación de las muestras. El cultivo de muestras de semen como prueba diagnóstica, aún teniendo gran valor, puede fallar debido a que:

- Existen animales que eliminan *B. ovis* de forma intermitente por el semen (16, 25, 88, 162, 186, 196). Para obviar este posible inconveniente es preciso sembrar 3 ó 4 muestras repetidas de semen tomadas con una semana de intervalo (25, 186).
- Existen problemas de contaminación en la recogida de semen en condiciones de campo. Existen numerosos gérmenes, bien contami-



nantes ambientales, bien pertenecientes a la flora saprofita del prepucio que interfieren el desarrollo de colonias de *B. ovis* por su crecimiento más rápido o por inhibición debida a sus metabolitos (133). Para obviar este inconveniente, al menos parcialmente, se hace necesario utilizar un medio muy selectivo como es el medio de Thayer-Martin (176) modificado con nitrofurantoina (24). Pese a todo, este medio específico puede fallar en la detección de algunos animales positivos serológicamente (98).

- c) En condiciones de campo existen problemas de transporte y conservación de las muestras de semen que pueden originar fallos en el crecimiento de *B. ovis*, si transcurre mucho tiempo desde que son recogidas hasta que son sembradas (187, 196).

La mayor parte de los autores coinciden en que el aislamiento de *B. ovis* a partir de muestras repetidas de semen, constituye la única prueba diagnóstica irrefutable, pero los animales en los que el germen no sea aislado, no pueden ser considerados como negativos, si aceptamos que existen animales con evidencia serológica de infección, de los que no se obtienen crecimientos bacterianos positivos (81, 98).

En las ovejas infectadas experimentalmente por escarificación en la mucosa vaginal, el germen no ha podido aislarse de la vagina pasados 64 días desde la inoculación, aunque *B. ovis* se aisló de la sangre hasta 98 días después de la inoculación (128).

6.5.2. En cadáveres

El aislamiento de *B. ovis* puede realizarse a partir de membranas fetales (28, 166), fetos abortados (101) y del contenido estomacal de corderos recién nacidos (21), procedentes de hembras con infección natural. MUHAMMED *et al.*, (1975) (128) no pudieron aislar *B. ovis* en hembras infectadas experimentalmente a partir de fetos, membranas fetales, útero y glándula mamaria.

En moruecos, el organismo puede ser aislado del epidídimo, glándulas bulbouretrales y vesículas seminales (13, 28, 47, 81, 86, 166). En moruecos infectados experimentalmente el aislamiento de *B. ovis* se ha realizado a partir del epidídimo (cabeza, cuerpo y cola), glándulas bulbouretrales, vesículas seminales, próstata, ganglios linfáticos (parotídeo, submaxilar, retrofaríngeo, preescapular e ilíaco), testículo, bazo y riñón (35, 98).

6.6. Inmunofluorescencia directa

Una técnica de inmunofluorescencia directa sobre frotis de semen ha sido puesta a punto para diagnosticar la infección por *Actinobacillus seminis* (1). En base a la fluorescencia específica observada sobre frotis de cultivos de *B. ovis*, sus autores proponen su utilización para el diagnóstico rápido de esta infección sobre frotis de semen. Esta prueba diagnóstica fue ya utilizada en Sudáfrica con buenos resultados (178).

6.7. Examen microscópico de semen

Inmediatamente después de la extracción de semen mediante electroeyaculación, pueden realizarse frotis en portaobjetos y teñirlos con las siguientes tinciones:

6.7.1. Eosina-nigrosina

Los frotis así teñidos pueden examinarse para observar la presencia de espermatozoides vivos, muertos y anormales. En la infección por *B. ovis* el número de espermatozoides vivos es muy bajo y las anomalías secundarias son las imperantes, siempre que los animales infectados estén afectados de epididimitis clínica (35, 65). Si los animales infectados no presentan epididimitis, puede no observarse ninguna alteración (65).

El valor diagnóstico de esta prueba es muy limitado debido a que, como ya se ha citado, existen numerosas causas capaces de originar lesiones de epididimitis, que originarían las mismas anomalías en el semen, y debido a que realizar esta prueba en condiciones de campo es prácticamente imposible.

6.7.2. Giemsa

Los frotis de semen así teñidos pueden observarse microscópicamente con la finalidad de evidenciar la presencia de células inflamatorias en el semen (35, 65), que puede detectar tanto inflamaciones agudas como crónicas del tracto genital. El valor de esta prueba es también muy limitado debido a que existen numerosas causas que pueden originar inflamaciones en el tracto genital (187) y a la dificultad de realizarla en condiciones de campo.

6.7.3. Ziehl-Neelsen modificado

Esta técnica tiene mucho más valor debido a su fiabilidad (187) y a que las muestras de semen pueden transportarse desde el lugar de recogida hasta el laboratorio, por ejemplo en una nevera portátil, sin que disminuya su sensibilidad.

También puede emplearse la tinción de Gram. La finalidad de estas técnicas sería evidenciar la presencia de microorganismos morfológica y tintorialmente similares a *B. ovis*.

6.8. Presencia de anticuerpos en plasma seminal.

La detección de anticuerpos específicos en el plasma seminal de moruecos infectados, especialmente durante el período agudo de la infección, puede hacerse mediante las técnicas de aglutinación, fijación del complemento y hemoaglutinación indirecta (114).

6.9. Diagnóstico diferencial

Lesiones de epididimitis pueden ser provocadas por traumatismos (186) y por distintos agentes patógenos, por lo que clínicamente es imposible distinguir su etiología.

A partir de moruecos afectados de lesiones testiculares y/o epididimarias se han aislado diversos agentes patógenos, parasitarios (*Cisticercus tenuicollis* (38, 165)) y bacterianos:

- *Histophilus ovis* (41)
- *Actinobacillus seminis* (11, 12, 26, 81, 112, 167, 181, 182, 191).
- *Actinobacillus lignieresii* (88)
- *Actinobacillus actinomycetem-comitans* (47).
- *Pasteurella* spp. (60, 92, 94, 195).
- *Bacteroides* (60).
- *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis* (38, 47, 62, 166, 195, 196).
- *Yersinia pseudotuberculosis* (196).
- *Brucella abortus* (60, 107).
- *Corynebacterium pyogenes* (47, 67, 195, 196).
- *Chlamydia* (63, 153, 171).
- *Escherichia coli* (23, 33)
- *Straphylococcus* spp. (23, 47, 94, 195, 196)
- *Streptococcus* spp. (23).
- *Pseudomona* spp. (23, 47).

Por lo tanto, existen varias especies de bacterias, distintas de *B. ovis*, que son capaces de producir lesiones de epididimitis clínicamente indistinguibles de las producidas por *B. ovis*.

Para diferenciar estas diversas causas de epididimitis de la infección por *B. ovis*, es preciso recurrir al diagnóstico serológico y bacteriológico, ya que clínica y anatomopatológicamente es prácticamente imposible hacerlo. Las infecciones que cursen con epididimitis, producidas por estas diferentes bacterias, deberían ser denominadas: "Epididimitis por *Actinobacillus*", etc.

Además de la infección por *B. ovis*, las bacterias más frecuentes productoras de las lesiones de epididimitis parecen ser *Actinobacillus seminis* y *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis*.

La "Epididimitis contagiosa del morueco" constituye una entidad clínica específica cuyo agente etiológico es *B. ovis*.

7. TRATAMIENTO

A los 5 meses de la inoculación experimental en moruecos, un tratamiento diario a base de clortetraciclina y dihidroestreptomina durante 21 días, consigue evitar la eliminación de *B. ovis* por el semen y las lesiones genitales quedan resueltas a los 4 meses del tratamiento. El mismo tratamiento a base de dihidroestreptomina sola o con sulfametacina no consigue el mismo resultado (108).

Un tratamiento parenteral en jóvenes moruecos al principio de la infección, a base de clorhidrato de tetraciclina (1 gr) y dihidroestreptomina (1 gr), administrado durante 21 días, ha dado resultado en algunos animales (76), pero no en todos. En cualquier caso, el tratamiento es muy costoso económicamente y sólo podría tener objeto en animales excepcionalmente valiosos y por otra parte, la seguridad de curación no es total y podrían crearse portadores.

8. PROFILAXIS

8.1 Sanitaria

Basada en la identificación de los animales infectados mediante las pruebas diagnósticas, ya estudiadas, y el consiguiente sacrificio de los mismos (40). Sobre los animales que convivan con los enfermos deberán realizarse pruebas diagnósticas repetidas cada 2 - 3 meses (76). Una vez saneado un rebaño bastará un sólo examen anual. Siguiendo esta normativa GIAUFFREI y SANCHIS (1974) (76) consiguieron reducir los niveles de infección en un rebaño de sementales de un 30 p. 100 a menos del 1 p. 100 en alrededor de un año.

La manera más sencilla para disminuir la incidencia de la infección consiste en realizar palpaciones del aparato genital de todos los moruecos antes de la estación de cubriciones y eliminar aquellos que presentan alteraciones del contenido escrotal (135). Siguiendo esta técnica no se consigue erradicar el proceso pero se reduce a niveles bajos (139). Todos los moruecos que presenten alteraciones en el contenido escrotal deben ser aislados y eliminados, incluso aquellos que todavía posean fertilidad aceptable (135). El proceso no puede ser erradicado totalmente de esta forma, debido a que pueden existir moruecos infectados que estén clínicamente sanos (121).

Una combinación de la palpación genital, pruebas serológicas y pruebas bacteriológicas, realizadas antes y después de la estación de cubriciones, permitiría detectar el mayor número posible de moruecos infectados y sanear las ganaderías infectadas (15, 88, 136, 147). En las ganaderías en vías de saneamiento, la palpación del aparato genital antes de la época de cubriciones y un examen serológico y bacteriológico anual, serían suficientes para erradicar la infección. La compra de sementales para reposición debería hacerse en ganaderías exentas de infección.

Algunos autores piensan que debido a la gran importancia que la hembra ovina puede tener en la difusión de la infección, en aquellas ganaderías en vías de saneamiento, en países donde la cría no es estacional, un reposo sexual de las ovejas durante al menos los 4 meses siguientes al parto o aborto, debería formar parte de cualquier programa de control y erradicación de la infección (128).

8.2. Médica (vacunación)

En aquellos países en los que la infección está tan extendida que no sea factible basar la lucha y erradicación en la profilaxis sanitaria, puede ser aconsejable la vacunación (27, 179).

Las vacunas empleadas para proteger los animales frente a esta infección son las siguientes:

8.2.1. Rev 1

La cepa Rev 1 es una cepa lisa atenuada de *B. melitensis*, no dependiente de la estreptomycin, aislada de una población estreptomycin-dependiente, procedente a su vez de la cepa virulenta 6056 de *B. melitensis* (61).

La vacunación con Rev 1 ha sido probada en Sudáfrica (179) con buenos resultados. Sin embargo, ha sido señalado que la incidencia de la infección en ganaderías en las que se vacuna es del 3,6 p. 100 y que la incidencia en ganaderías no vacunadas era del 5 p. 100, posiblemente debido a defectos en los procedimientos de vacunación (193). Experiencias posteriores han demostrado que vacunando los moruecos a temprana edad (3-4 meses)

quedan inmunizados frente a la infección. La revacunación de estos animales no mejora la inmunidad y la vacunación de moruecos adultos no da buen resultado (78).

La vacunación de moruecos con Rev 1 a los 5 meses de edad, produce casi el 100 p. 100 de protección frente a la inoculación de una elevada dosis de gérmenes virulentos 17 meses después, sin provocar ninguna alteración y sin eliminación de microorganismos vacunales por el semen (70).

La vacunación con Rev 1 no da lugar a reacciones positivas en el diagnóstico serológico de la infección por *B. ovis* (3), y es la medida profiláctica más adecuada y sencilla frente a esta infección.

La vacunación con Rev 1 puede originar títulos positivos frente a los antígenos de *B. abortus* utilizados rutinariamente en el diagnóstico de la infección por *B. melitensis*, con el consiguiente problema de interpretación diagnóstica, aunque si los animales son vacunados a los 3 ó 4 meses de edad, se hacen serológicamente negativos frente a antígenos de *B. abortus* 6 meses después de la vacunación (78).

8.2.2. *B. abortus* cepa B-19

La cepa 19 de *B. abortus* fue aislada por primera vez en 1923 y se observó que tenía escasa virulencia y que resultaba eficaz para vacunación en ganado bovino. La cepa es de patogenicidad baja y estable, de inmunogenicidad relativamente alta, no propagándose de animal a animal (2).

Esta vacuna ha sido muy usada sobre todo en inoculación simultánea con bacterinas de *B. ovis*, mejorando mucho la inmunidad que crean las bacterinas cuando son utilizadas solas (32, 88, 121, 122).

La vacunación con B-19, al igual que ocurre con la vacuna Rev 1, produce positividad en las pruebas diagnósticas (150), con el consiguiente problema. En ganado bovino, este problema parece estar casi resuelto, utilizando pruebas serológicas de IDR (Inmuno-Difusión-Radial) capaces de diferenciar entre animales infectados y vacunados (55, 99).

La vacunación con esta cepa, no origina problemas en el diagnóstico de la infección por *B. ovis* (77).

Aunque algunos autores no dan importancia a las alteraciones consiguientes a la vacunación con B-19 (17), pueden darse localizaciones de la cepa vacunal en el aparato genital, con eliminación de la misma por el semen durante prolongados periodos de tiempo (31, 32, 88), aparición de cojeras que pueden afectar a un número importante de animales a causa de



epifisitis (32, 102, 189), aparición de abscesos en el punto de inoculación (189) y deterioro de la calidad del semen durante 2 a 9 semanas cuando se vacuna a moruecos de un año o adultos (110).

8.2.3 Bacterinas de *B. ovis*

Han sido probadas bacterinas formoladas con diversos adyuvantes. Parece ser que se obtienen mejores resultados con adyuvante salino-oleoso que con hidróxido de aluminio (31, 85, 116).

Buenos resultados han sido obtenidos en inoculaciones mixtas de B-19 con bacterinas salino-oleosas (32, 42), o absorbidas con hidróxido de aluminio (17, 121, 122)

La inoculación única de bacterina salino-oleosa da mejores resultados que la inoculación doble de bacterina con hidróxido de aluminio (31).

La inoculación doble, con 20 días de intervalo, de una bacterina oleosa produce elevada inmunidad (32, 116), similar a la obtenida inoculando B-19 y bacterina oleosa (32) y superior a la obtenida con una inoculación doble con 20 días de intervalo de bacterina con hidróxido de aluminio (116) y a la obtenida con una sola inoculación de bacterina oleosa (32).

El inconveniente de las bacterinas es que produce interferencias diagnósticas (173), aunque sólo durante 3 meses después de la vacunación (116)

La vacunación con dos dosis de bacterina oleosa, separadas con 20-30 días de intervalo y repetida cada 6 meses, puede conferir una sólida inmunidad (116, 135). La vacunación puede provocar alguna reacción local y la última inoculación debería hacerse al menos 30 días antes de la estación de cubriciones (135).



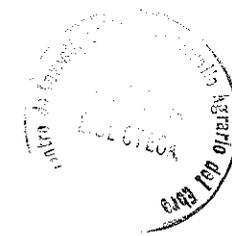
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AJAI C.O., COOK J.E., DENNIS S.M. 1980. Diagnosing ovine epididymitis by immunofluorescence. *Vet. Rec.*, **107**, 421-424.
2. ALTON G.G., JONES L.M., PIETZ D.E. 1976. *Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis*. FAO/OMS. Serie monografías n° 55 (Edición 1976).
3. AMANZHOLOV B.A. 1978. Immunogenicity of brucellosis vaccines against infectious epididymitis of rams. *Trudy Vsesoyuznogo Instituta Eksperimental'noi Veterinari*, **47**, 84-87).

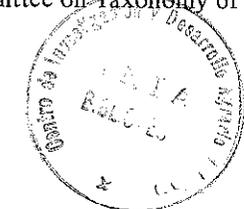
4. ANGHEL C., ANGHEL S. 1970. Recherches epizootologiques et anatomocliniques sur l'epididymite infectieuse. *Rec. Méd. Vet.*, **146**, 15-24.
5. BADIOLA J.J., BARBERAN M., GARCIA DE JALON J.A., BASCUAS J.A. 1981. Características reproductivas de moruecos Romanov afectados de epididimitis infecciosa. III. Alteraciones anatomopatológicas. *VI Jornadas de la S.E.O. Talavera de la Reina*. Junio 1981 (En prensa).
6. BAKURDJIEV K. 1972. Fertility of rams with infectious epididymitis. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **9**(8), 53-57.
7. BAKURDJIEV K., KRUSTEV K.H. 1976. Autophagocytosis of spermatozoa in rams with a *Brucella ovis* infection. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **13**(6), 44-51.
8. BAKURDJIEV K., STOYANOV I. 1977. Cholinesterase activity of semen from rams infected with *Brucella ovis*. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **14**(4), 46-51.
9. BAKURDJIEV K., KRUSTEV H. 1977. Ultrastructural changes in the spermatozoa of rams infected with *Brucella ovis*. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **14**(5), 3-12.
10. BAKURDJIEV K., KRUSTEV K.H. 1978. Ultrastructural changes in testis and epididymis of rams with infectious epididymitis. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **15**(5), 44-52.
11. BAYNES I.D., SIMMONS G.C. 1960. Ovine epididymitis caused by *Actinobacillus seminis*, n.sp. *Aust. Vet. J.*, **36**, 454-459.
12. BAYNES I.D., SIMMONS G.C. 1968. Clinical and pathological studies of Border Leicester rams naturally infected with *Actinobacillus seminis*. *Aust. Vet. J.*, **44**, 339-343.
13. BEHRENS H. 1979. *Lehrbuch der schafkrankheiten*, Verlag Paul Parey - Berlin - Hamburg (1979). Págs. 57-59 y 178-181.
14. BELLO ACEVEDO J.A. 1978. Diagnóstico de la Brucelosis ovina por el test de difusión en gel de agar. Su aplicación en animales con lesiones testiculares y en aquellos aparentemente sanos. *Tesis Doc. Vet.* Facultad de Medicina Veterinaria. Universal Austral de Chile 31 p.
15. BERMUDEZ J., BARRIOLA J., CUENCA L., RIET F., STOLOVAS A. 1980. Brucelosis ovina: estudio de un brote y esquema de control. *Veterinaria Uruguay*, **16**(72), 31-37.
16. BIBERSIEIN E.L., Mc GOWAN B. 1958. Epididymitis in rams. Studies on laboratory diagnosis. *Cornell Vet.*, **48**, 31-44.

17. BIBERSTEIN E.L., Mc GOWAN B., ROBINSON E.A., HARROLD D.R. 1962. Epididymitis in rams. Studies on immunity. *Cornell Vet.*, **52**, 214-227.
18. BIBERSTEIN E.L., Mc GOWAN B., OLANDER H., KENNEDY P.C. 1964. Epididymitis in rams. Studies on pathogenesis. *Cornell Vet.* **54**, 27-41.
19. BLASCO J.M., FOLCH J., BARBERAN M. 1981. Características reproductivas de moruecos Romanov afectados de epididimitis infecciosa I Observaciones clínicas y alteraciones de la fertilidad VI Jornadas de la S.E.O (Talavera, Junio 1981). (En prensa)
20. BLASCO J.M., DIAZ R. 1982. Epididimitis contagiosa del morueco Aislamiento de *Brucella ovis* en España. *Laboratorio*, **73**(438), 479-487.
21. BLOBEL H., FERNANDEZ J.C.I., MIES-FILHO A., RAMOS A.A., TREIN E.J. 1972. Estudos sobre a etiologia de epididimite ovina no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Serie Veterinaria, **7**, 1-4
22. BLOM E.A. 1950, *Fert. Steril*, **1**, 223. Citado por CAMERON R.D.A. y LAUERMAN L.H. 1976
23. BOGDAN J. 1960. A contribution to the etiopathogenesis of epididymitis tail nodes in rams *Folia Vet.*, **4**(1-2), 209
24. BROWN G.M., RANGER C.R., KELLEY D.J. 1971. Selective media for the isolation of *Brucella ovis*. *Cornell Vet.*, **61**(2), 265-280
25. BROWN G.M., PIEIZ D.E., PRICE D.A. 1973. Studies on the transmission of *Brucella ovis* infection in rams *Cornell Vet.*, **63**, 29-40.
26. BRUERE A.N., WEST D.M., MACLACHLAM N.I., EDWARDS J.D., CHAPMAN H.M. 1977. Genital infection of ram hoggets associated with a gram-negative pleomorphic organism *N.Z. vet. J.*, **25**, 191-193.
27. BRUNET J. 1978 Past, present and future of Brucellosis prophylaxis *Patte*, **225**, 33-37.
28. BUDDLE M.B., BOYES B.W. 1953 A brucella mutant causing genital disease of sheep in New Zealand and Australia. *Aust. Vet. J.*, **29**, 245-253.
29. BUDDLE M.B. 1955. Observations on the transmission of *Brucella* infection in sheep. *N.Z. Vet. J.*, **3**, 10-19.
30. BUDDLE M.B. 1956 Studies on *Brucella ovis*, as cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. *J. Hyg.*, **54**(3), 351-366.
31. BUDDLE M.B. 1962 Production of immunity in rams against *Brucella ovis* infection. *N.Z. Vet. J.*, **10**, 111-115
32. BUDDLE M.B., CALVERLEY F.K., BOYES B.W. 1963 *Brucella ovis* vaccination of rams. *N.Z. Vet. J.*, **11**, 90-93.
33. BURGESS G.W., Mc DONALD J.W. 1981 *Escherichia coli* epididymitis and seminal vesiculitis in a ram. *Aust. Vet. J.*, **57**, 479-480.
34. CAMERON R.D.A., CARLES A.B., LAUERMAN L.H. 1971 The incidence of *Brucella ovis* in some Kenya flocks and its relationship to clinical lesions and semen quality *Vet. Rec.* **89**, 552-557.
35. CAMERON R.D.A., LAUERMAN L.H. 1976 Characteristics of semen changes during *Brucella ovis* infection in rams. *Vet. Rec.*, **99**, 231-233
36. CASAS-OLASCOAGA R., DURAN A., RIVAS L.A. 1966. La epididimitis infecciosa de los carneros por *Brucella ovis* (Primera comprobación en el Uruguay). *An. Fac. Vet. Urug.*, **11**, 71-91.
37. CEDRO V.C.F., CISALE H.O., DE BENEDETTI L.M.E. 1964. Un antígeno para la intradermoreacción en brucelosis genital ovina por *Brucella ovis*. *Rev. Inv. Agrop.*, **1**, 11-18
38. CHRISTIE B.R. 1961 *Vict. Vet. Proc.*, **26**. Citado por HUGHES K.L. y CLAXTON P.D. 1968
39. CLAPP K.H. 1955. A complement fixation test for the diagnosis of ovine brucellosis with special reference to epididymitis. *Aust. Vet. J.*, **31**, 27-28.
40. CLAPP K.H., KEOGH J., RICHARDS M.H. 1962. Epidemiology of ovine brucellosis in South Australia (Further observations). *Aust. Vet. J.*, **38**, 482-486
41. CLAXTON P.D., EVERETT R.E. 1966. Recovery of an organism resembling *Histophilus ovis* from a ram. *Aust. Vet. J.*, **42**, 457-458
42. CLAXTON P.D. 1968. *Brucella ovis* vaccination of rams A comparison of two commercial vaccines and two methods of vaccination. *Aust. Vet. J.*, **44**, 48-54.
43. CORBEL M.J., MORGAN W.J.B. 1975 Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **25**, 83-89.
44. COX I.C., GORRIE C.J.R., NAIRN R.C., WARD H.A. 1977. A comparison of methods for the serological diagnosis of *Brucella ovis* infection. *Br. Vet. J.*, **133**, 442-445.

- 45 CRAWFORD R.C., 1949. *Proc. N.Z. Soc. anim. Prod.*, **9**, 141. Citado por HUGHES K.L. y KLAXTON P.D., 1968.
- 46 CUBA-CAPARO A., MYERS D.M. 1973. Pathogenesis of epididymitis caused by *Brucella ovis* in laboratory animals. *Am. J. Vet. Res.*, **34**(8), 1077-1085
- 47 DELONG W.J., WALDHALM D.G., HALL R.F. 1979. Bacterial isolates associated with epididymitis in rams from Idaho and Eastern Oregon flocks. *Am. J. Vet. Res.*, **40**(1), 101-102.
- 48 DIAZ R., JONES L.M., WILSON J.B. 1967. Antigenic relationship of *Brucella ovis* and *Brucella melitensis*. *J. Bacteriol.*, **93**(4), 1262-1268
- 49 DIAZ R., JONES L.M., LEONG D., WILSON J.B. 1968a. Surface antigens of Smooth Brucellae. *J. Bacteriol.*, **96**(4), 893-901.
- 50 DIAZ R., JONES L.M., WILSON J.B. 1968b. Antigenic relationship of the Gram-negative organism causing canine abortion to Smooth and Rough Brucellae. *J. Bacteriol.*, **95**(2), 618-624.
- 51 DIAZ R., DORRONSORO I. 1971. Contribución al diagnóstico serológico de Brucelosis y Yersiniosis. I Utilidad de la reacción de precipitación en gel. *Rev. Clin. Esp.*, **32**, 367-372.
- 52 DIAZ R., LEVIEUX D. 1972. Rôle respectif en sérologie de la Brucellose bovine des antigènes et des immunoglobulines G₁ et G₂ dans les tests d'agglutination de Coombs et au Rose Bengale ainsi que dans le phénomène de zone. *C.R. Acad. Sci. Fr.*, **274**, 1593-1596
- 53 DIAZ R. 1972. Importance de la réaction de précipitation sur gélose dans le diagnostic de la Brucellose. *Ouest Médical*, **25**(10), 967-968.
- 54 DIAZ R., BOSSERAY N. 1973. Identification d'un composé antigénique spécifique de la phase rugueuse (R) des Brucella. *Ann. Rech. Vétér.*, **4**(2), 283-292
- 55 DIAZ R., GARATEA P., JONES L.M., MORIYON I. 1979. Radial immunodiffusion test with a Brucella polysaccharide antigen from differentiating infected from vaccinated cattle. *J. Clin. Microbiol.*, **10**, 37-41.
- 56 DIMITROV A., GORANOV S.I. 1978. Biochemical studies on the blood serum of sheep infected with *Brucella ovis*. *Veterinary Science*, **15**(3), 107-112
- 57 DIRENKO A., RUDENKO A.F. 1976. Experimental *Brucella ovis* infection in sheep. *Veterinariya*, **44**, 26-31.
- 58 DOLLEY PH., GERAL M.F., PELLERIN J.L., MILON A., LAUTIE R. 1982. L'épididymite contagieuse du bélier (Infection à *Brucella ovis*). Note 1: Mise au point de trois méthodes de diagnostic sérologique. *Revue Méd. vet.* **133**(3), 187-195
- 59 DUBRAY G., PLOMMET M. 1976. Structure et constituants des Brucella. Caractérisation des fractions et propriétés biologiques. *Develop. in Biol. Standard*, **31**, 68-91
- 60 EDKAHL M.O., MONEY D.F.L., MARTIN C.A. 1968. Some aspects of epididymitis of rams in New Zealand. *N.Z. Vet. J.*, **16**, 81-82
- 61 ELBERG S.S., FAUNCE K. 1957. Immunization against brucella infection. VI. Immunity conferred on goats by a nondependent mutant strain of *Brucella melitensis*. *J. Bacteriol.*, **73**, 211-217.
- 62 EL WISHY A.B., KHATER A.R., EL SAWAF S.A., MOUSTAFA A.S. 1975. Reproductive disorders caused by *Corynebacterium ovis* in imported merino rams. *Veterinary Medical J.*, **23**(B), 189-203.
- 63 EUGSTER A.K., BALL L., CARROLL E.J., STORZ J. 1970. Experimental genital infection of bulls and rams with Chlamydial (Psittacosis) agents. *Proc. 6th Int. Meet. Dis. Cattle, Phila.*, 1970, 327-332.
- 64 FENSTERBANK R. 1972. L'épididymite du bélier. *3èmes Jour. de la recherche ovine et caprine (INRA-ITOVIC)*. 94-97. Paris
- 65 FOLCH J., BLASCO J.M., URIARTE J. 1981. Características reproductivas de moruecos Romanov, afectados de epididimitis infecciosa. II Alteraciones seminales. *VI Jornadas de la S.E.O.* Junio 1981. Talavera de la Reina (en prensa).
- 66 GALLOWAY D.B. 1966. Some aspects of reproductive wastage in rams. *Aust. Vet. J.*, **42**, 345-347.
- 67 GAMICK P. 1961. Epididymitis der Schafböche in der Slowakei. *Zuchthyng*, **5**(2), 81.
- 68 GARCIA-CARRILLO C., CUBA-CAPARO A., MYERS D.M. 1974. Comparison of the susceptibility of young male goats and rams to infection by *Brucella ovis*: Serological, Bacteriological and Pathological studies. *Gac. Vet. (B. Aires)*, **36** (288-), 355-374.



69. GARCIA-CARRILLO C., CASAS-OLASCOAGA R., CUBA-CAPARO A., LUCERO N., SZYFRES B. 1977. Experimental infection of male goats with *Brucella ovis*. Bacteriological, serological and histopathological study. *Revista de la Asoc. Argentina de Microbiol.*, 9(3), 101-108.
70. GARCIA-CARRILLO C. 1981. Protection of rams against *Brucella ovis* infection by *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine. *Zbl. Vet. Med. B.*, 28, 425-431.
71. GAVRILOV P.P. 1972. Epizootic diseases of sheep due to *Brucella ovis*. *Veterinariya*, 7, 55-57.
72. GDOVIN I., KRUDKA F., KOPPEL K. 1956. Epididymite contagieuse du bélier en Slovaquie Centrale. *Vet. Bull.*, 26, 261.
73. GELEV I. 1972. Immunochemical studies and differential diagnosis of *Brucella* infections in sheep. Res. in *Vet. Bull.* (1972), abs 1976.
74. GELEV I. 1974. Differential diagnosis of *Brucella* infections in sheep reacting to the complement fixation test. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, 11(1), 23-29.
75. GIAUFFREI A., SANCHIS R., GAUMONT R. 1972. Epididymite contagieuse du bélier à *Br. ovis* dans le Sud-est de la France. *Bull. Acad. Vet.*, 45, 469-473.
76. GIAUFFREI A., SANCHIS R. 1974. Etude d'un foyer d'epididymite contagieuse du bélier. Erradication de la maladie. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 82, 581-586.
77. GOTOV G.N., STEPANOVA K.E., VOLCHENKO A., PAUTOV V., TUROVA R.I., 1975. Epidemiology of disease produced by *Brucella ovis* in sheep (rams). *Veterinariya*, 7, 50-52.
78. GRADWELL D.V., ZYL F.E. 1975. Effectivity of Rev 1 vaccine in rams against *Brucella ovis* infection. *J.S. Afr. Vet. Ass.*, 46(4), 349-351.
79. GUSTAFSSON B. 1966. *Acta vet. scand.*, 7(17). Citado por CAMERON R.D.A. y LAUERMAN L.H. 1976.
80. HADJU S. 1962. Serologic investigation and control of infectious epididymitis and ovine brucellosis in Slovakia. Res. in *Vet. Bull.* (1962), 32, 664.
81. HARDEFELDI K.W. 1977. Field investigations into the diagnosis of some infectious causes of epididymitis in rams. *Victorian Vet. Proc.*, 35, 28-29.
82. HARTLEY W.J., JEBSON J.L., Mc FARLANE D. 1954. The artificial infection of sheep with a *Brucella*-like organism. *N.Z. Vet. J.*, 2, 28-59.
83. HARTLEY W.J., JEBSON J.L., Mc FARLANE D. 1955. Some observations on natural transmission of ovine brucellosis. *N.Z. Vet. J.*, 3, 5-10.
84. HAUGHEY K.G., HUGHES K.L., HARTLEY W.J. 1968. *Brucella ovis* infection. 2. The infection status in breeding flocks as measured by examination of rams and the perinatal lamb mortality. *Aust. Vet. J.*, 44, 531-535.
85. HAUGHEY K.G., HUGHES K.L. 1969. The apparent failure of a vaccine to protect rams against naturally occurring *Brucella ovis* infection. *Aust. Vet. J.*, 45, 10-12.
86. HOPKINSON W.I., LLOYD J., MICKE B.M. 1979. *Brucella ovis* in Merino rams in Western Australia. *Aust. Vet. J.*, 55(4), 200-201.
87. HOYER B.H., Mc CULLOUGH N.B. 1968. Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis*, Canine Abortion Organisms and other *Brucella* species. *J. Bacteriol.*, 96(5), 1783-1790.
88. HUGHES K.L., CLAXTON P.D. 1968. *Brucella ovis* infection. *Aust. Vet. J.*, 44, 41-47.
89. HUGHES K.L. 1972a. Experimental *Brucella ovis* infection in ewes. 1. Breeding performance of infected ewes. *Aust. Vet. J.*, 48, 12.
90. HUGHES K.L. 1972b. Experimental *Brucella ovis* infection in ewes. 2. Correlation of infection and complement fixation titres. *Aust. Vet. J.*, 48, 18-22.
91. IONESCU I., CIORTEA G., BARZU I., PREDOIU I., DACILA E., DIACONU M. 1973. Preparation of purified antigen for the diagnosis of infectious epididymitis in rams. *Lucr. Inst. Cercet. Vet. Bioprep. Pasteur*, 10, 29-46.
92. JAMIESON S., SOLTYS M.A. 1947. Orchiepididymitis of rams due to *Pasteurella pseudotuberculosis*. *Vet. Rec.*, 59, 351.
93. JANSEN B.C. 1980a. The pathology of bacterial infection of the genitalia in rams. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 47, 263-267.
94. JANSEN B.C. 1980b. The aetiology of ram epididymitis. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 47, 101-107.
95. JEBSON J.L., HARTLEY W.J., Mc FARLANE D. 1954. The artificial infection of sheep with a *Brucella*-like organism. II. The artificial infection of rams. *N.Z. Vet. J.*, 2, 85-89.
96. JONES I.M. 1967. Report to the International Committee on Nomenclature of Bacteria by the Subcommittee on Taxonomy of Brucellae. *Int. J. system. Bact.*, 17, 371-375.



97. JONES L.M., DIAZ R., TAYLOR A.G. 1973 Characterization of allergens prepared from Smooth and Rough strains of *Brucella melitensis*. *Br. J. exp. Path.*, **54**, 492-508.
98. JONES L.M., DUBRAY G., MARLY J. 1975. Comparison of methods of diagnosis of *Brucella ovis* infection of rams *Ann. Rech. Vétér.*, **(6)**(1), 11-22.
99. JONES L.M., BERMAN D.I., MORENO E., DEYOE B.L., GILSDORF M.J., HUBER J.D., NICOLETTI P. 1980 Evaluation of radial immunodiffusion test with polysaccharide B antigen for diagnosis of bovine brucellosis. *J. Clin. Microbiol.*, **12**(6), 753-760.
100. JUBB K.V.F., KENNEDY P.C. 1974. *Patología de los animales domésticos* Ed. Labor. Barcelona Tomo 1.
101. KADAR I., BANFALVI E. 1979. Isolation of *Brucella ovis* from aborted sheep fetuses and serological methods to detect infection of ewes and rams. *Magyar Allatorvosok Lapja*, **34**(8), 542-544.
102. KAISER J.C., HARTLEY W.J. 1963. Lameness in rams following vaccination against *Brucella ovis* infection. *N.Z. Vet. J.*, **11**, 65-67.
103. KEAST J.C. 1963. *Wool Technol. Sheep Breed.*, **9**, 47. Citado por WEBB R.F., QUINN C.A., COCKRAM F.A. y HUSBAND A.J. 1980.
104. KENNEDY P.C., FRAZIER L.M., Mc GOWAN B. 1956. Epididymitis in rams: Pathology and bacteriology *Cornell Vet.*, **46**, 303-319.
105. KOMISSAROVA L.I. 1973. Pathological changes in rams and breeding ewes, infected with *Brucella ovis* *Sbornik Rabot Leningrad Veter. Instit.*, **34**, 80-84.
106. KOMISSAROVA L.I. 1975. Pathological and histological changes in rams and ewes infected with *Brucella ovis* *Sbornik Rabot Leningrad Veter. Instit.*, **40**, 240-245.
107. KULSHRESHIHA R.C., KALRA D.S. 1978. A study on sheep brucellosis with particular reference to infectious epididymitis outbreak in rams. *Indian vet. J.*, **55**(5), 357-362.
108. KUPPASWAMY P.B. 1954. *N.Z. vet. J.*, **2**, 110. Citado por LAWRENCE W.E. 1961.
109. LAWS I., SIMMONS G.C., LUDFORD C.G. 1972. Experimental *Brucella ovis* infection in rams *Aust. Vet. J.*, **48**, 313-317.
110. LAWRENCE W.E. 1961. Ovine brucellosis. A review of the disease in sheep manifested by epididymitis and abortion. *Brit. Vet. J.*, **117**, 435-446.
111. LEONG D., DIAZ R., MILNER K., RUBDACH J., WILSON J.B. 1970. Some structural and biological properties of *Brucella* endotoxin. *Infect. Immunity*, **1**, 174-182.
112. LIVINGSTON C.H.W., HARDY W.I. 1964. Isolation of *Actinobacillus seminis* from ovine epididymitis. *Am. J. Vet. Res.*, **25**, 660-663.
113. MASSALSKI N. 1972. Immunodiffusion studies on the reaction of serum from sheep and goats with brucellosis and *Brucella ovis* antigen, *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **9**(10), 105-109.
114. MASSALSKI N. 1973. Antibodies in the seminal plasma of rams infected with *Brucella ovis* *Veterinarna Sbirka*, **70**(2), 13-15.
115. MASSALSKI N. 1973. Dynamics of IgM and Ig G in rams experimentally infected with *Brucella ovis* *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **10**(10), 29-34.
116. MASSALSKI N. 1978. Attempts at vaccinating against infectious epididymitis in rams *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **15**(7), 31-37.
117. Mc DIARMID J.J. 1978. Observations on *Brucella ovis* CFT results *N.Z. Vet. J.*, **26**(11), 286-287.
118. Mc FARLANE D., JEBSON J.I., HARTLEY W.J., SALISBURY R.M., Mc CLUIE I.J., OSBORNE H.G. 1952. Ram epididymitis, ewe abortion and lamb neonatal mortality. *Aust. Vet. J.*, **28**, 221-226.
119. Mc GOWAN B., SCHULTZ G. 1956. Epididymitis in rams. I. Clinical description and field aspects. *Cornell Vet.*, **46**, 227-281.
120. Mc GOWAN B., DEVINE D.R. 1960. Epididymitis of rams. The effect of the naturally occurring disease upon fertility *Cornell Vet.*, **50**, 102-105.
121. Mc GOWAN B., HARROLD D.R. 1979. Epididymitis in rams: Studies on vaccine efficacy. *Cornell Vet.*, **69**, 73-76.
122. Mc GOWAN B. 1979. Epididymitis in rams: effect of vaccination and culling on the clinical incidence of the disease. *Cornell Vet.*, **69**, 67-72.
123. MEINERSHAGEN W.A., FRANK F.W., WALDHALM D.G. 1974. *Brucella ovis* as cause of abortion in ewes *Am. J. Vet. Res.*, **35**(5), 723-724.



124. MEYER M.E., CAMERON H.S. 1956. Studies on the etiological agent of epididymitis in rams. *Am. J. Vet. Res.*, **17**, 495-497.
125. MEYER M.E. 1969. Phenotypic comparison of *Brucella ovis* to the DNA - Homologous *Brucella* species. *Am. J. Vet. Res.*, **30**(10), 1757-1764.
126. MEYER M.E. 1976. Evolution and taxonomy in the genus *Brucella*. Progesterone induction of filterable forms of *Brucella abortus* type 2 with revertant characteristics essentially indistinguishable in vitro from those of *Brucella ovis*. *Am. J. Vet. Res.*, **37**(2), 211-214.
127. MORO S. 1962. Enfermedades infecciosas de los ovinos en el Perú. 3.- Brucelosis ovina producida por *Brucella ovis*. *Rev. Fac. Med. Vet. (Lima)*, **26**, 3-35.
128. MUHAMMED S.I., LAUERMAN L.H., MESFIN G.M., OTIM C.P. 1975. Duration of *Brucella ovis* infection in ewes. *Cornell Vet.*, **65**, 221-227.
129. MUNCZ F., KORMENDY B., STITLINGNE M.M. 1978. Value of the gel diffusion test for detecting *Brucella ovis* infection. *Magyar Allatorvosok Lapja*, **33**(11), 751-752.
130. MURRAY R.M. 1969. Scrotal abnormalities in rams in tropical Queensland with particular reference to Ovine Brucellosis and its control. *Aust. Vet. J.*, **45**, 63-67.
131. MYERS D.M., SINIUK A.A. 1970. Preliminary report on the development of a Diffusion-in-Gel method for the diagnosis of Ram Epididymitis. *Appl. Microbiol.*, **19**(2), 335-337.
132. MYERS D.M., JONES L.M., VARELA-DIAZ V.M. 1972. Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion tests in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. *Appl. Microbiol.*, **23**(5), 894-902.
133. MYERS D.M. 1973. Field evaluation of the Gel Diffusion test for the diagnosis of Ram Epididymitis caused by *Brucella ovis*. *Appl. Microbiol.*, **26**(6), 855-857.
134. MYERS D.M., VARELA-DIAZ V. 1979. Serodiagnosis of Ram Epididymitis by Counterimmunoelectrophoresis, using *Brucella ovis* surface R. Antigen. *J. Clin. Microbiol.*, **10**(4), 451-453.
35. NELSON A.O., BUSHNELL R. 1976. Maintaining ram fertility. *LEAFFLET. Division of Agricultural Sciences. University of California*, n° 2924.
136. O'HARA P.J., WEDDEL W. 1979. What use is the *Brucella ovis* complement fixation test? *N.Z.V.A. Sheep Society Seminar. Lincoln College*, (7-8 July 1978) Lincoln (New Zealand), 1979, p. 39-44.

137. ORGEBIN CRIST M.C. 1969. Studies on the function of the epididymis. *Biol. Reprod. Supp.*, **1**, 155-175.
138. ORLOV E.S., KAS'YANOV A.N., KLOCHKOV A.A., ROMAKHOV V.A. 1976. Stability of the ovine infectious epididymitis agent. *Trudy Vsesoyuznogo Instituta Eksperimental'noi Veterinariï*, **44**, 55-59.
139. OSBORNE H.G. 1955. *Aust. Vet. J.*, **31**, 11. Citado por LAWRENCE W.E., 1961.
140. OUCHIERLONY O. 1949. Antigen-antibody reactions in gels. *Acta path. microbiol. scand.*, **26**, 507.
141. PADILLA F., KNACKFUSS A. 1977. Comparação entre os métodos de Gel Difusão e Fixação do Complemento no diagnóstico de Epididimite ovina causada por *Brucella ovis*. *Bol. I.P.V.D.F.*, **4**, 53-56.
142. PEREZ E., FLORES R., DE LA HIGUERA J.A., TRIGO F.J. 1979. Diagnóstico y descripción de un brote de epididimitis ovina en México originado por *Brucella ovis*. *Veterinaria Méx.*, **10**, 221-226.
143. PESHKOV Y. 1978. On certain aspects related to the antigen structure and serological specificity of *Brucellae* phylogenetically differentiated into S-an R-forms and dissociated R-variants. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **15**(9), 34-40.
144. PLANT J.W. 1977. *Brucella ovis* infection and flock fertility. *N.S.W. Vet. Proc.*, **13**, 36-38.
145. POZVARI M. 1980. Comparison of the complement fixation and the agar gel immunodiffusion test to detect *Brucella ovis* antibodies. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, **87**(5), 182-186.
146. PREDOIU I. 1973. Diagnosis of *Brucella ovis* infection in ewes. *Lucr. Inst. Cercet. Veter. Bioprep. Pasteur.*, **10**, 47-52.
147. PROKOF'EV A.G., TELESHOV V.I., LYUBOMIROVA L.V. 1977. Experience of eradicating ovine infectious epididymitis. *Veterinariya*, **7**, 54-55.
148. RIS D.R., TE PUNGA W.A. 1963. An indirect haemagglutination test for the detection of *Brucella ovis* antibodies, I. Development of the test. *N.Z. Vet. J.*, **11**, 94-97.
149. RIS D.R. 1964. An indirect haemagglutination test for the detection of *Brucella ovis* antibodies. II. Comparison of the indirect haemagglutination test with other methods. *N.Z. Vet. J.*, **12**, 72-75.

150. RIS D.R. 1967. The persistence of antibodies against *Brucella ovis* and *Brucella abortus* in rams following vaccination: a field study *N.Z. Vet. J.*, **15**, 94-98.
151. RIS D.R. 1970. The bacteriology and serology of ewes inoculated with viable *Brucella ovis* organisms. *N.Z. Vet. J.*, **18**, 2-7.
152. RIS D.R. 1974. The complement fixation test for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in sheep. *N.Z. Vet. J.*, **22**, 143-146.
153. RODOLAKIS A., BERNARD K. 1977. Isolation of Chlamydia from the genitals of rams affected by clinical epididymitis. *Bull. Acad. Vet.*, **50**(1), 65-70.
154. ROLLINSON D.H.L. 1951. *Br. Vet. J.*, **107**, 451. Citado por CAMERON R.D.A. y LAUERMAN L.H. 1976.
155. ROMAKHOV V.A., AMANZHOLOV B.A., ORLOV E.S. 1977. Virulence of *Brucella ovis* strains for guinea pigs. *Byulleten V.I.E.V.* **28**, 26-31.
156. ROMAKHOV V.A. 1978. Indirect haemagglutination and antibody neutralization test for infections epididymitis of rams. *Trudy Vsesoyuznogo Instituta Eksperimental'noi Veterinariy*, **47**, 76-83.
157. RUDENKO A.F. 1976a. Experimental *Brucella ovis* infection in laboratory animals I. Guinea pigs. *Veterinariya*, **43**, 22-28.
158. RUDENKO A.F. 1976b. Experimental *Brucella* infection in laboratory animals. II. Mice. *Veterinariya*, **43**, 72-75.
159. RUNNELS R.A., MONLUX W.S., MONLUX A.W. 1968. *Principios de patologia Veterinaria* 1^a Edición. Ed. Continental S.A. 676-688.
160. RYAN F.B. 1964. Eradication of ovine brucellosis. *Aust. Vet. J.*, **40**, 162-165.
161. SANCHEZ M., SILVA E., BELLO J., PINOCHEI L. 1979. Epididymitis in rams. Response of rams with and without testicular lesions to a gel diffusion technique. *Zoonoses*, **2**(1/2), 17-19.
162. SANCHIS R., GIAUFFREI A. 1975. L'epididymite contagieuse du bélier. *Rec. Méd. Vét.*, **151**(12), 791-798.
163. SANCHIS R., GIAUFFREI A. 1976. Mise au point d'une microtechnique de fixation du complement appliquée au serodiagnostic de l'epididymite contagieuse du bélier. *Rec. Méd. Vét.*, **152**(2), 305-310.
164. SHERGIN Y.K., VOZHDAEV N.S., KIM V.I. 1974. Infectious epididymitis of rams. *Veterinariya*, **1**, 58-59.
165. SHORTRIDGE E.H. 1962. Lesions of the testicle and epididymis of rams. *N.Z. Vet. J.*, **10**, 23-26.
166. SIMMONS G.C., HALL W.I.K. 1953. Epididymitis of rams. *Aust. Vet. Jour.*, **29**, 33-40.
167. SIMMONS G.C., BAYNES I.D., LUDFORD C.G. 1966. Epidemiology of *Actinobacillus seminis* in a Flock of Border Leicester sheep. *Aust. Vet. J.*, **42**, 183-187.
168. SIMMONS R.E., BROWN G.M., RANGER C.R., PIEZ D.E. 1970. A survey of the incidence of rams epididymitis in Idaho caused by *Brucella ovis*. *Proc. U.S. Animal Health Ass.*, **74**, 157-160.
169. STAMP J.I., McEWAN A.D., WATT J.A., NISBET D.I. 1950. Enzootic abortions in ewes. I. Transmission of the disease. *Vet. Rec.*, **62**, 251-254.
170. STEPANOV E.M., GENERALOV I.S., STEPANOVA K.E., VOLCHENKO A.A. 1975. Epidemiology and diagnosis of infectious epididymitis of rams (in the Chita Region USSR). *Veterinariya*, **11**, 46-48.
171. STORZ J., CARROLL E.J., STEPHENSON E.M., BALL L., EUGSTER A.K. 1976. Urogenital infection and seminal excretion after inoculation of bulls and rams with Chlamydia. *Am. J. Vet. Res.*, **37**, 517-520.
172. SWANSON E.W., BOYD L.J. 1962. *Am. J. Vet. Res.*, **23**, 300. Citado por CAMERON R.D.A. y LAUERMAN L.H. 1976.
173. SWIFT B.L., MAKI L.R. 1968. Immunologic studies on three ram epididymitis bacterins. *Cornell Vet.*, **58**, 659-665.
174. SYUSYUKIN V.A., OB'EDKOV G.A. 1978. Detection of *Brucella ovis* antibody in rams with infectious epididymitis. *Dokl. Vet. Naukii Pered. Opyta-Zhivotnovodstvu*, **4**, 21-22.
175. SZYFRES B., CHAPPEL R. 1962. Comprobación bacteriológica de la epididimitis infecciosa ovina en la República Argentina. *Rev. Fac. Cien. Vet. La Plata*, **3**, 405-409.
176. THAYER J.D., MARTIN J.E. 1964. A selective medium for the cultivating of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. *Pub. Health Dept. (U.S.)*, **79**, 49.
177. TUDORIU I.D., ANDREI M., KAMBIR M., MOLOAVEANU P., IONICA C. 1959. Epididymitis brebiciolor. *Abst. en Vet. Bull. (1960)*, **30**, 302.

187. VAN DRIMMELEN G.C., BOTES H.J.W., CLAASSEN N., ROSS W.F., VILJOEN C.C. 1963. The use of fluorescent antibody in the diagnosis of *Brucella ovis* infection in sheep semen smears. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, **34**(2), 265-271.
179. VAN HEERDEN K.M., VAN RENSBURG S.W.J. 1962. The immunization of rams against ovine brucellosis. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, **33**(2), 143-148.
180. VAN RENSBURG S.W.J., VAN HEERDEN K.M., LE ROUX D.J., SNYDERS A.J. 1958. Infectious infertility in sheep. *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, **29**, 223-233.
181. VAN IONDER E.M., BOLTON I.F.W. 1968. Epididymitis in rams caused by *Actinobacillus seminis*. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, **39**(2), 87-90.
182. VAN IONDER E.M. 1973. Infection of rams with *Actinobacillus seminis*. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, **44**(3), 235-240.
183. VELIZ N., AMEGHINO E., ROSADIO R. 1973. Método comparativo entre inhibición de la aglutinación y fijación del complemento para detectar anticuerpos a *Br. ovis*. *Rev. Invest. Pecuarias* (Peru), **2**(2), 169-172.
184. WATSON W.A. 1979. Disease and reproduction in sheep. *The management and diseases of sheep* Edited by The British Council. London SW1A 2BN. 86-99.
185. WATT D.A. 1970. Investigations of ovine Brucellosis in merino rams of Western Australia. *Aust. Vet. J.*, **46**, 506-508.
186. WATT D.A. 1972. Testicular abnormalities and spermatogenesis of the ovine and other species. *Vet. Bull.*, **42**(4), 181-190.
187. WEBB R.F., QUINN C.A., COCKRAM F.A., HUSBAND A.J. 1980. Evaluation of procedures for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. *Aust. Vet. J.*, **56**(4), 172-175.
188. WEDDELL W. 1974. An automated complement fixation test for *Brucella ovis* in sheep. *N.Z. Vet. J.*, **22**(1/2), 1-4.
189. WEST D.M., JOHNSTONE A.C., BRUERE A.N., CHAPMAN H.M. 1978. Epiphytitis in rams following vaccination against *Brucella ovis* infection. *N. Z. Vet. J.*, **26**, 133-134.
190. WEST D.M., BRUERE A.N. 1979. Accreditation for freedom from ovine brucellosis. *N. Z. Vet. J.*, **27**(12), 263-265.
191. WORTHINGTON R.W., BOSMAN P.P. 1968. Isolation of *Actinobacillus seminis* in South Africa. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, **39**(2), 81-85.
192. WORTHINGTON R.W., MULDER M.S.G. 1969. Antigenic relationship of *Brucella ovis* to *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* using the complement fixation test. *Onderstepoort J. vet. Res.*, **36**(2), 191-198.
193. WORTHINGTON R.W., VAN IONDER E.M., MULDER M.S. 1972. The incidence of *Brucella ovis* infection in South African rams: A serological survey. *Jl S. Afr. vet. Ass.*, **43**, 83.
194. ZAMORA J., ROJAS X., REINHARDT G., DEL CAMPO C.H. 1971a. Epididimitis de los carneros. I. Aislamiento de *Brucella ovis* en el Sur de Chile (Provincia de Valdivia). *Arch. Med. Vet.*, **3**(2), 73-74.
195. ZAMORA J., REINHARDT G., ROJAS X. 1971b. Epididimitis de los carneros. II. Frecuencia y etiología de la enfermedad en el Sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, **3**(2), 75-76.
196. ZAMORA J., CHAUAN E., POLETTE M., ALONSO O., ROJAS X., KRUIZE J., HERVE M. 1977. *Brucella ovis* y otros agentes etiológicos en epididimitis y orquitis infecciosa ovina. *Arch. Med. Vet.*, **9**(2), 94-99.

SERVICIO DE PUBLICACIONES AGRARIAS
MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION
Paseo Infanta Isabel, 1 MADRID-7