

La Epididimitis infecciosa de los carneros por *Brucella ovis*

Primera comprobación en el Uruguay

Dres.

* Raúl Casas Olascoaga

** Aníbal Durán del Campo

Br.

*** Luis Artigas Rivas

Instituto de Ciencias Microbiológicas
Fecha de Recepción: 15 de mayo de 1966

RESUMEN.—

Se comprueba por primera vez en el Uruguay la Epididimitis infecciosa de los carneros provocada por *Brucella ovis* (según nomenclatura propuesta por Buddle).

Se realiza el examen clínico de 253 carneros de una estancia del Depto. de Florida, comprobándose en el examen manual de los órganos genitales 6.7 % con lesiones de tipo inflamatorio.

Se efectúa el examen bacteriológico del semen de 42 carneros (23 con lesiones genitales observadas clínicamente y 19 aparentemente normales), aislándose de 8 animales naturalmente infectados una bacteria que, por sus características morfológicas, tintoriales, culturales, bioquímicas y serológicas resulta ser *Brucella ovis*.

Se reproduce experimentalmente la enfermedad en los carneros vírgenes, logrando la aparición de síntomas y lesiones típicas y recuperándose *Brucella ovis* del semen y órganos genitales de los animales experimentalmente inoculados.

Las pruebas serológicas de fijación del complemento con sueros de carneros natural y experimentalmente infectados, resultaron fuertemente positivas frente a los antígenos de *Brucella ovis*,

* Jefe de Departamento de Bacteriología.

** Médico Veterinario de la Dirección de Ganadería. Ministerio de Ganadería y Agricultura.

*** Colaborador Honorario del Departamento de Bacteriología.

procedentes de Australia y Nueva Zelandia y el preparado con las cepas nativas.

Se realizan estudios comparativos por M.B. Buddle (Wallaceville Animal Research Station New Zealand) que demuestran que las cepas aisladas en Uruguay son idénticas a las cepas aisladas en Nueva Zelandia.

Se realizan estudios comparativos por E. L. Biberstein (School of Veterinary, Medicine, Agricultural Experiment Station, California) que demuestran que las cepas aisladas en Uruguay son idénticas con las cepas aisladas en EE. UU.

INTRODUCCION.—

La epididimitis infecciosa de los carneros, producida por *Brucella ovis*, denominada también por algunos investigadores *Brucelosis ovina genital*, es una enfermedad infecciosa caracterizada por producir lesiones de tipo inflamatorio, localizadas preferentemente en la cola del epidídimo, provocando esterilidad en los carneros y aborto e infertilidad en las ovejas.

En Australia en 1942 Gunn, Sanders y Granger reconocieron la epididimitis de los carneros como una de las causas principales de infertilidad. Sugirieron que esta enfermedad podría ser causada por una infección bacteriana.

Stamp, Mc Ewen, Watt y Nisbet en 1950 describieron una enfermedad de las membranas fetales de los corderos, causada por un microorganismo que presentaba características morfológicas y tintoriales semejantes al grupo *rickettsiae* y *psittacosis-linfogranuloma*. Informaron que las ovejas con fetos infectados podían abortar, dar nacimientos prematuros y aún nacer corderos aparentemente normales. Los abortos ocurrían usualmente en avanzado estado de preñez.

En Nueva Zelandia en 1952 Mc Farlane, Salisbury, Osborne y Jebson informaron sobre una enfermedad similar que afectaba las membranas fetales de las ovejas, describiendo como agente infectante a microorganismos semejantes a *rickettsias*.

La etiología de la enfermedad fue determinada definitivamente en Australia por Simmons y Hall (1953) y en Nueva Zelandia por Buddle y Boyes. Estos investigadores lograron independientemente el aislamiento y cultivo de un microorganismo parecido a las *Brucellas* (*Brucella like-organisms*) a partir del semen y epidídimos de animales enfermos.

Buddle y Boyes sugirieron que el microorganismo podría ser una mutante estable o una variedad de *Brucella melitensis* adaptada al ovino.

En 1956 Buddle propuso la denominación de *Brucella ovis* para este organismo, nombre que si bien no ha sido aceptado universalmente se ha usado extensamente a partir de su introducción.

Muchos investigadores consideran que no debe incluirse en el género *Brucella*, y Meyer y Cameron sostuvieron que posee muchas características del género *Hemophilus*.

Posteriormente la enfermedad fue reconocida en EE.UU., Checoslovaquia, Africa del Sur.

En el Uruguay en 1955-58-60 Durán del Campo observó clínicamente la epididimitis de los carneros. Estableció que un 10 % de los carneros adultos examinados presentaban lesiones testiculares palpables, estando localizadas el 72 % de dichas lesiones en el epidídimo.

MATERIALES Y METODOS

En junio de 1961 se realizó el examen clínico de 253 carneros pertenecientes al establecimiento "El Rincón" ubicado en la localidad Timote, 10ª sección policial del Dpto. de Florida.

Se practicó el examen de los órganos genitales por palpación manual, en cada uno de los carneros, que se distribuían según las edades en la siguiente forma:

38 carneros de 2 dientes
30 carneros de 4 dientes
72 carneros de 6 dientes
113 carneros de 8 dientes

Se encontraron 21 carneros con lesiones varias de las cuales 17 correspondían al tipo de lesiones inflamatorias, o sea el 6,7 % del total de carneros examinados y el 9,1 % del total de carneros de 6 y 8 dientes. La distribución de las lesiones por edad fue la siguiente:

Carneros de 6 dientes:	6,9 %
Carneros de 8 dientes:	10,6 %

No se encontraron lesiones de tipo inflamatorio en carneros de 2 y 4 dientes.

El tipo de lesión y su distribución fue el siguiente:

Epididimitis bilateral:	1 caso
Epididimitis bilateral y orquitis:	1 caso
Epididimitis unilateral:	14 casos
Orquitis:	1 caso

Se extrajo semen mediante electroeyaculación de los 21 carneros que presentaban lesiones a la palpación manual (identificados de 1 - 21) y de 19 carneros aparentemente normales al examen clínico (identificados del 22 - 40).

Se procedió al examen macroscópico y microscópico en fresco del semen inmediatamente de colectado, de cada uno de los 40 carneros seleccionados.

Con las muestras de semen recogidas en tubos estériles se realizaron los siguientes estudios bacteriológicos:

a) Frotis de cada muestra y coloración empleando los métodos de Gram, Ziehl Neelsen modificado por Stamp, Mc. Ewen, Watt y Nisbet (1950) y método de Wright.

En las muestras de semen correspondientes a los carneros Nos. 4, 5, 11 y 16 se observan bacilos pequeños, a veces cocobacilares aislados y en pares, gramnegativos, a veces en agrupaciones en el interior de polimorfonucleares. Por la coloración Ziehl-Neelsen modificada, tomaban una tinción rosado pálido.

b) Cada muestra de semen fue sembrada en placas de agar triptosa con 5 % de sangre de bovino, placas de agar triptosa con 5 % de sangre de conejo e incubadas a 37°C., bajo campana con 10 % de CO₂ y 90 % de aire, durante 5 días.

Además las muestras de semen se sembraron en placas de agar triptosa con 5 % de sangre de bovino, caldo triptosa y medio A.C. (Difco.). Se incubaron aeróbicamente a 37°C. durante 5 días.

En las placas de agar triptosa sangre de bovino y de conejo correspondientes a las muestras de semen de los carneros 4, 5, 11, 12, 16, 17, y 20 desarrollaron colonias circulares, convexas, brillantes, de bordes regulares, de color gris blanquecino y no hemolíticas, observándose en los frotis un bacilo pequeño gramnegativo y teñido de rosado pálido por el Ziehl-Neelsen modificado, similar al observado en los frotis directos de semen.

Dichas colonias fueron transferidas a agar triptosa con 10 % de suero de bovino y agar triptosa con 5 % de sangre de bovino, incubándose a 37°C. con una tensión del 10 % de CO₂ y 90 % de aire y por duplicado en atmósfera normal.

Luego de 5 días de incubación a 37°C. con 10 % de CO₂ se obtuvieron cultivos puros, que fueron identificados de la siguiente forma:

Cepa	4B	aislada	de	semen	del	carnero	4
"	5B	"	"	"	"	"	5
"	11B	"	"	"	"	"	11
"	12B	"	"	"	"	"	12
"	16B	"	"	"	"	"	16
"	17B	"	"	"	"	"	17

No hubo desarrollo en los medios incubados en atmósfera normal.

De las 40 muestras de semen se aislaron además 8 cepas de *Corynebacterium*.

El 18 de octubre de 1961 se examinó clínicamente y se extrajo semen de un carnero Merino, 8 dientes (identificado como carnero C) procedente del Dpto. de Artigas y que presentaba li-

gera epididimitis unilateral izquierda. Los exámenes bacteriológicos permitieron el aislamiento de un microorganismo con las mismas características de las cepas aisladas de los carneros de la estancia "El Rincón". La cepa fue identificada con la letra C.

El 20/2/62 murió el carnero C procediéndose a la extracción de los testículos y su examen bacteriológico. Se observaron enorme cantidad de microorganismos cocobacilares o bacilos cortos aislados y en pares localizados intra y extra celularmente. Se aisló el microorganismo de ambos epidídimos.

El 22/11/61 se examinó clínicamente y se extrajo semen de un carnero raza Corriedale (identificado como 5A) procedente de Florida.

Se aisló del semen la cepa 5. Este carnero murió el 26/12/61 comprobándose la epididimitis bilateral y orquitis izquierda, aislándose el microorganismo directamente del epidídimo.

CARACTERES MORFOLOGICOS, CULTURALES Y BIOQUÍMICOS DE LAS CEPAS AISLADAS

MORFOLOGIA

Bacilos pequeños o cocobacilos, pleomórficos, gramnegativos, extremos redondeados, eje recto, de 0.7 a 1.2 micras de largo por 0.3 a 0.7 micras de ancho, se presentan aislados y en pares.

No presentan movilidad, no forman esporos y no se observa cápsula. Se tiñen débilmente de color rosado pálido con el método de Ziehl-Neelsen modificado por Stamp y colaboradores.

CARACTERES CULTURALES

En el aislamiento primario no desarrollan aeróbicamente. El microorganismo requiere una atmósfera de aproximadamente el 10 % de CO_2 o superior. Crece en medios enriquecidos con sangre o suero.

Después de varios subcultivos en CO_2 se logró el crecimiento de las cepas 4B y 11B en atmósfera normal, apareciendo un cultivo muy ténue en agar triptosa suero.

En agar triptosa con 10 % de suero de bovino se obtuvieron colonias convexas, circulares, de bordes lisos, brillantes, traslúcidas, de color grisáceo-celeste en la observación por luz reflejada.

En agar triptosa con 5 % de sangre de bovino o conejo desarrollan colonias convexas, circulares, de bordes lisos, brillantes, no hemolíticas.

En caldo triptosa con 10 % de suero bovino desarrolla en gránulos pequeños que se adhieren a las paredes del tubo y al cabo de 5 días se depositan parcialmente en el fondo. Al agitar el sedimento se disgrega. El microorganismo aparece en forma más bacilar en el medio líquido que en los medios sólidos o en la observación directa del semen.

En gelatina más 10 % de suero de bovino hay moderado crecimiento, no hay licuación después de 30 días de incubación.

En cultivo primario no desarrolla en medios simples, es necesario el enriquecimiento de los medios con suero o sangre. Luego de repetidos subcultivos las cepas crecieron en agar triptosa.

El desarrollo es más satisfactorio y abundante en agar con el agregado de suero o sangre de bovino, ovino o conejo.

PRUEBA DE BRAUN Y BONESTELL

Las diferentes cepas fueron sometidas al examen macroscópico y microscópico con una solución al 1‰ de acriflavina neutra, observándose una aglutinación flocular, indicando que los microorganismos no se encontraban en el aislamiento primario en la fase lisa. Los subcultivos de las diferentes cepas mostraron aglutinación frente a la acriflavina manteniendo su característica de presentarse en la fase rugosa.

Esta característica se ha presentado en las cepas aisladas en Nueva Zelandia, Australia y E.E.U.U.

PROPIEDADES BIOQUIMICAS

El estudio de la fermentación de los carbohidratos se realizó en medio de caldo triptosa con 10 % de suero de bovino y el agregado de 1 % del carbohidrato, empleando como indicador rojo fenol. Se incubaron a 37°C. con 10% de CO₂ durante 30 días.

No se observó producción de ácido o gas con glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, salicina, arabinosa, xilosa, manitol, dulcitol y sorbitol.

En leche tornasolada no mostró cambio de reacción, ni coagulación luego de 30 días de incubación.

Las pruebas del Indol, rojo de metilo, Voges - Proskauer, nitratos y ureasa (medio de Bauer), fueron negativas para todas las cepas aisladas.

La producción de ácido sulfhídrico luego de 4 días de observación resultó negativa.

La prueba de la Catalasa resultó fuertemente positiva para todas las cepas en cultivo primario y en los subcultivos.

ACCION BACTERIOSTATICA DE LOS COLORANTES

Las cepas de *Brucella ovis* 4B, 5B, y 11B, *Brucella abortus* 1—962 y *Brucella suis*, cepa Mateo, fueron cultivadas en agar triptosa con 10 % de suero de bovino y con el agregado de los colorantes tionina, en concentraciones de 1:25.000, 1:50.000 y 1:100.000, fuscina básica en concentraciones de 1:50.000 y 1:100.000 y cristal violeta 1:1.000.000. Se incubaron durante 5 días a 37°C, con 10 % de CO₂ para *Brucella ovis* cepas 4B, 5B y 11B y *Brucella abortus* 1—962 y en atmósfera normal para *Brucella suis*. Los resultados fueron los siguientes:

C E P A S	C O L O R A N T E S					
	1:25.000	Tionina 1:50.000	1:100.000	Fuscina básica 1:50.000	1:100.000	Cris. violeta 1:1.000.000
Brucella ovis 4B (Uruguay)	±	+	++	+++	++	—
Brucella ovis 5B (Uruguay)	±	+	++	+++	++	—
Brucella ovis 11B (Uruguay)	±	+	++	+++	++	—
Brucella abortus 1—962 (Ur.)	—	—	—	+++	+++	+++
Brucella suis Mateo (Bras.)	+	+	+	—	—	+++

- = Sin desarrollo. Inhibición total.
± = Ligero desarrollo. Inhibición parcial.
+ = Buen desarrollo. Ligera inhibición.
++ = Abundante desarrollo. No hay inhibición.

Los resultados obtenidos son comparables en su sensibilidad a los colorantes con las cepas de Nueva Zelandia y Australia. Estas pruebas como se mencionará más adelante fueron realizadas también, por Buddle en Nueva Zelandia.

REPRODUCCION EXPERIMENTAL DE LA ENFERMEDAD

Se inocularon 4 carneros vírgenes, controlados previamente por examen clínico, bacteriológico y serológico.

La inoculación se realizó por vía intratesticular e intraepididimal (lado derecho) de cada uno de los animales. El carnero O fue inoculado con la cepa 11B, el carnero OT con la cepa 5B, el carnero 1R-34 con la cepa 5 y el carnero 1R-33 con la cepa C.

Los resultados de las inoculaciones experimentales fueron los siguientes:

EXAMEN CLINICO: En los primeros días post-inoculación los animales mostraron tristeza, inapetencia, deshidratación y adelgazamiento, presentando una hipertermia que osciló en 40°C. y 41,5°C. durante varios días, para luego mantenerse entre 39°C. y 40°C. Localmente en la zona de inoculación había calor y agrandamiento de la cola del epidídimo.

CARNERO O: A los 15 días presentaba en la zona de inoculación calor y aumento de volumen de la cola del epidídimo. A los 40 días post-inoculación presentaba el cordón testicular con escasa reacción, testículo agrandado, caliente y con consistencia aumentada, especialmente en la zona cercana al polo testicular. La cola del epidídimo se encontraba dura y aumentada de volumen (el doble o más que el epidídimo izquierdo) y muy adherido al testículo correspondiente. A los 60 días se extrajo semen mediante electroeyaculación, colectándose 4 o 5 gotas de líquido seminal, no se observaron espermatozoides.

CARNERO OT: A los 15 días post-inoculación el epidídimo derecho se presentó caliente, doloroso y aumentado en dos o tres veces su volumen normal. El cordón testicular derecho más grueso y duro que el opuesto. El animal había recuperado el apetito. A los 40 días post-inoculación, el cordón testicular derecho aumentado de volumen, más consistente y menos móvil que el izquierdo. La cola del epidídimo muy aumentada de volumen. A los 60 días post-inoculación se extrajo semen, colectándose 1 ml. de color lechoso pálido, movilidad macroscópica nula; al microscopio se apreció un 50 % aproximadamente de espermatozoides con buena movilidad. En los frotis se observaron gran cantidad de polimorfonucleares y otras células, bacilos pequeños, aislados, en pares, gramnegativos. Se aisló *Brucella ovis* denominándose Ceba OT.

CARNERO 1R-34: A los 20 días post-inoculación presentaba la cola del epidídimo derecho muy grande y dura, netamente demarcada del testículo. Relación epidídimo testículo 1/3.

Se extrajo semen colectándose 2 ml. de color blanco normal, aspecto cremoso, movilidad macroscópica nula. En el examen bacteriológico se aisló *Brucella ovis*, denominándose cepa 1R-34.

CARNERO 1R-33: A los 20 días post-inoculación presentó la cola del epidídimo derecho y testículo correspondiente notablemente agrandados y endurecidos. En el semen a su vez se observaron las siguientes características: volumen 1 ml., color normal, aspecto cremoso y movilidad macroscópica nula. Se aisló *Brucella ovis* (cepa 1R-33).

REPRODUCCION EN ANIMALES DE LABORATORIO.

Se inocularon 4 cobayos por vía intratesticular e intraperitoneal. Dos de ellos murieron a los 41 días post-inoculación. La bacteria no fue recuperada. Los dos restantes fueron sacrificados a los 105 días post-inoculación, recuperándose la bacteria del bazo de uno de los cobayos inoculados intraperitonealmente. En todos los cobayos las pruebas de aglutinación con antígeno de *Brucella abortus* fue negativa.

ESTUDIOS SEROLOGICOS

Se realizaron extracciones de sangre de los carneros C, 4 y 5 (naturalmente infectados) y carneros O y OT (experimentalmente infectados) para la obtención de los sueros, a efectos de realizar las pruebas serológicas.

Con estos sueros se procedió a realizar las pruebas de seroaglutinación rápida en placa y lenta en tubo frente al antígeno de *Brucella abortus* Cepa 1119, para descartar la infección por *Br. abortus*.

Los sueros C, 4, 5, O, y OT fueron negativos en las diluciones 1:25, 1:50, 1:100, y 1:200.

Para el estudio de los anticuerpos de *Brucella ovis* se empleó la prueba de Fijación del Complemento según técnica de K. Clapp.

ANTIGENOS

Se emplearon tres antígenos diferentes: antígeno de *Brucella ovis* enviado por Josephine Symonds del "Institute of Medical and Veterinary Science", Australia, antígeno de *Brucella ovis* enviado por M. B. Buddle, "Wallaceville Animal Research Station", Nueva Zelandia.

Con cepa recientemente aislada (cepa 1R-34) preparamos antígeno de *Brucella ovis*, cultivada en agar triptosa con 10 % de suero bovino e incubada durante 72 horas, en atmósfera con 10 % de CO₂. Posteriormente el cultivo fue suspendido en solución salina y sumergido en baño de agua en ebullición durante 15 minutos. La suspensión fue centrifugada por 2 horas a 3.500 r.p.m. El sobrenadante fue empleado como antígeno en diferentes diluciones. En diluciones 1:40 o mayores, los diferentes antígenos no se mostraron anticomplementarios.

SUEROS:

Se emplearon los sueros C, 4 y 5 correspondientes a carneros naturalmente infectados, O y OT correspondientes a carneros experimentalmente infectados, suero australiano de carnero naturalmente infectado, suero neozelandés de carnero naturalmente infectado y suero hiperinmune de conejo. El suero hiperinmune de conejo fue preparado de la siguiente manera: se usó como antígeno una suspensión de *Brucella ovis* cepa C, con una concentración de 20×10^9 organismos por ml. tratados con 0.3 % de formaldehído durante 24 horas a 37°C. Se realizaron 5 inoculaciones por vía intravenosa a intervalos de 4 días. Se inoculó 1 ml. del antígeno en cada una de ellas. Se efectuó la sangría a blanco 13 días después de la última inoculación.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Antígeno *Brucella ovis* (enviada por M. B. Buddle desde N. Zelandia).

Antígeno diluido 1:40

	1:10	1:20	1:40	1:80
Suero C (naturalmente infectado)	+	+	+	+
Suero 4 (naturalmente infectado)	+	+	+	+
Suero australiano (naturalmente infectado)	+	+	+	—

Antígeno diluido 1:80

Suero C	+	—	+	—
Suero 4	+	+	+	+
Suero Australiano	+	+	—	—

Antígeno Brucella ovis (enviado por Symonds desde Australia)

Antígeno diluido 1:40

Suero C	+	+	+	—
Suero OT (Experimentalmente infectado)	+	+	+	—
Suero O (Experimentalmente infectado)	+	—	—	—
Suero australiano	+	+	—	—
Suero neozelandés	+	+	—	—
Suero hiperinmune de conejo Cepa C	+	+	+	+
Suero 1R Carnero virgen (Presuero)	—	—	—	—
Carnero 2R Carnero virgen (Presuero)	—	—	—	—

No se realizaron diluciones de suero mayores de 1:80.

Los resultados obtenidos muestran en los sueros de carneros natural y experimentalmente infectados, reacción fuertemente positiva para anticuerpos de Brucella ovis fijadores del complemento.

En las pruebas realizadas en EE. UU., E. L. Biberstein obtuvo los siguientes títulos:

Suero C: 1:160
 Suero 4: 1:160
 Suero O: 1:80
 Suero OT: 1:160

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS CEPAS AISLADAS EN URUGUAY CON LAS CEPAS NATIVAS DE NUEVA ZELANDIA y EE. UU.

Las cepas de *Brucella ovis* 5, 11B, 12B, 16B, 17B y C, aisladas de carneros naturalmente infectados fueron enviadas a M. B. Buddle de Wallaceville Animal Research Station, Nueva Zelanda, para su estudio comparativo con las cepas actuantes en dicho país.

En comunicación personal (15 de mayo de 1962) M. B. Buddle confirmó que "estas cepas fueron idénticas a las cepas locales". Las pruebas realizadas por M. B. Buddle con nuestras cepas fueron: sensibilidad frente a los colorantes, (Tionina 1:25.000; 1:50.000; Fuscina básica 1:50.000; 1:100.000; Violeta de Metilo 1:100.000). Además actividad ureasa (negativa) y producción de SH₂ (negativa).

M. B. Buddle preparó antígenos para las pruebas de Fijación del Complemento y Hemaglutinación usando las cepas 16B y 17B, enfrentándolas a antisueros standards. Las cepas de Uruguay se comportaron en idéntica manera que las cepas aisladas en Nueva Zelanda.

Las cepas 5B, 11B, 12B, 16B y 17B conjuntamente con los sueros de los carneros C y 4 naturalmente infectados y los sueros de los carneros O y OT experimentalmente infectados, fueron enviados a Ernst L. Biberstein de School of Veterinary Medicine, Agricultural Experiment Station, en Davis, California, para su estudio comparativo con las cepas nativas de EE. UU.

En comunicación personal (6/4/62) Ernst L. Biberstein informó que nuestras cepas eran similares morfológica y culturalmente a las cepas locales (de EE.UU.). Asimismo informa que los sueros fueron fuertemente positivos a la prueba de Fijación del Complemento:

Suero C	positivo	1:160
Suero 4	"	1:160
Suero O	"	1:80
Suero OT	"	1:160

Confirmó nuestro hallazgo del agente etiológico de esta epididimitis infecciosa de los carneros.

CASOS NATURALMENTE INFECTADOS

CARNERO 4.

Raza Corriedale, 8 dientes.

Examen clínico: Testículo izquierdo aumentado de tamaño y endurecido —orquitis—.

Testículo derecho aparentemente normal.

Epidídimo izquierdo adherido y sin delimitación.

Semen. — Apariencia: deficiente.

Movilidad macroscópica: nula.

” microscópica: algunos espermatozoides muestran movimiento oscilatorio.

Concentración: oligospermia

Morfología: muy escasos espermatozoides normales, gran cantidad de cabezas sueltas. Se observaron polimorfonucleares y otras células y asimismo bacilos pequeños y cocobacilos que se tiñen de rosado tenue con el Ziehl-Neelsen modificado. Con el método de Gram se observan formas cocoideas y bacilos cortos, algunos en masa, Gram positivos.

Se aisló *Brucella ovis* (cepa 4) y *Corynebacterium*.

CARNERO 5.

Raza Corriedales, 8 dientes.

Examen clínico: Testículo izquierdo aparentemente normal.

Testículo derecho aparentemente normal.

Posible inflamación de la cabeza del epidídimo derecho.

Semen. — Apariencia: deficiente.

Movilidad macroscópica: nula

” microscópica: nula

Concentración: oligospermia

Morfología: muchos espermatozoides normales, alto porcentaje de cabezas sueltas. Se observaron polimorfonucleares y otras células; abundancia de elementos cocobacilares y bacilares dispuestos aisladamente, en pares y en grupos, extra e intracelularmente, a veces llenando completamente el citoplasma.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa 5B).

CARNERO 11.

Raza Corriedales, 8 dientes.

Examen clínico: Testículo izquierdo y derecho aparentemente normales.

Epidídimo derecho normal

Epidídimo izquierdo voluminoso y duro — epididimitis—.

Semen. — Apariencia: lechosa

Movilidad macroscópica: nula

” microscópica: nula

Concentración: Azoospermia total

Morfología: ausencia de espermatozoides, se observaron polimorfonucleares en gran cantidad y otras células, asimismo numerosos microorganismos cocobacilares y bacilares cortos teñidos de rosado por el ZIEHL-Neelsen modificado, dispuesto extra e intracelularmente. Se presentaron aislados y en pares.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa 11B).

CARNERO 12.

Raza Corriedales, 8 dientes.

Examen clínico: Testículos izquierdo y derecho normales.

Epidídimo derecho normal.

Epidídimo izquierdo aumentado de volumen y ligeramente endurecido.

Semen. — Apariencia: Se observan coágulos o grumos, presentando un color amarillento.

Movilidad macroscópica: nula

” microscópica: nula.

Concentración: normal.

Morfología: espermatozoides aparentemente normales, se observaron polimorfonucleares y otras células.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa 12B).

CARNERO 16

Raza Corriedale, 8 dientes

Examen clínico: Testículos derecho e izquierdo normales.

Epidídimo izquierdo endurecido y aumentado de volumen —epididimitis—.

Epidídimo derecho normal.

Semen. — Apariencia: lechosa y de color grisáceo.

Movilidad macroscópica: nula

” microscópica: se observó movimientos vibratorios.

Concentración: oligospermia.

Morfología: La gran mayoría de los espermatozoides presentaron colas incurvadas y cabezas sueltas. Se observaron polimorfonucleares y otras células, discreta cantidad de cocobacilos y bacilos teñidos de rosado por el Ziehl-Neelsen modificado, algunos muy débilmente teñidos.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa 16B).

CARNERO 17.

Raza Corriedale, 8 dientes.

Examen clínico: Testículos izquierdo y derecho normales.

Epidídimo izquierdo normal.

Epidídimo derecho muy endurecido y agrandado —epididimitis—.

Semen. — Apariencia: lechosa

Movilidad macroscópica: nula.

” microscópica: nula.

Concentración: normal.

Morfología: discreta cantidad de espermatozoides normales y muchas cabezas sueltas y algunas colas. Se observaron polimorfonucleares y otras células; no se observaron microorganismos.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa 17B).

CARNERO C

Raza Merino, 8 dientes.

Examen clínico: Testículos normales.

Epidídimo izquierdo ligeramente aumentado de volumen.

Epidídimo derecho normal.

Semen. — Apariencia: lechosa.

Movilidad macroscópica: nula.

” microscópica: nula.

Concentración: oligospermia.

Morfología: Espermatozoides normales y anormales sin cola. Se observaron polimorfonucleares y otras células; también gran cantidad de microorganismos cocobacilares y bacilares cortos que se tiñeron de rosado por el Ziehl-Neelsen modificado.

Se aisló *Brucella ovis* (Cepa C).

CARNERO 5A.

Raza Corriedale, 8 dientes.

Examen clínico: Testículo derecho normal.

Testículo izquierdo endurecido —orquitis—

Epidídimo izquierdo aparentemente normal.

Epidídimo derecho (cola) muy dura y aumentada de volumen —epididimitis—.

Semen. — Apariencia: completamente anormal, presentando un color rojo intenso. Se obtuvo un líquido sumamente espeso, intensamente hemorrágico con masas sólidas.

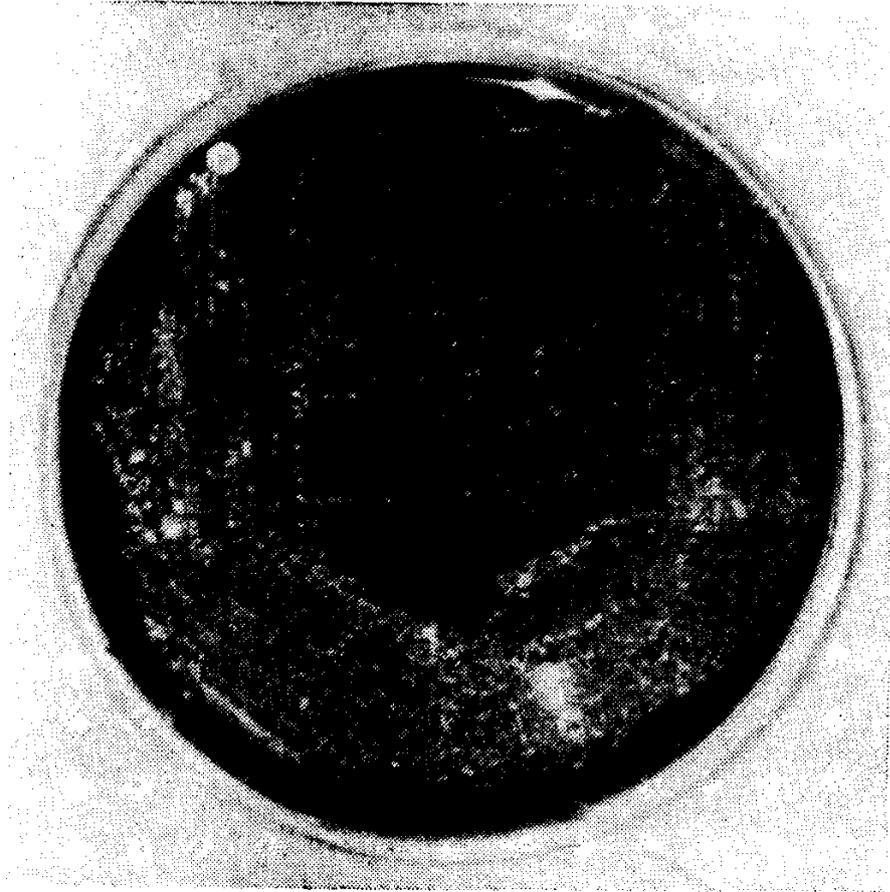
Movilidad macroscópica: nula.

” microscópica: nula.

Concentración: azoospermia.

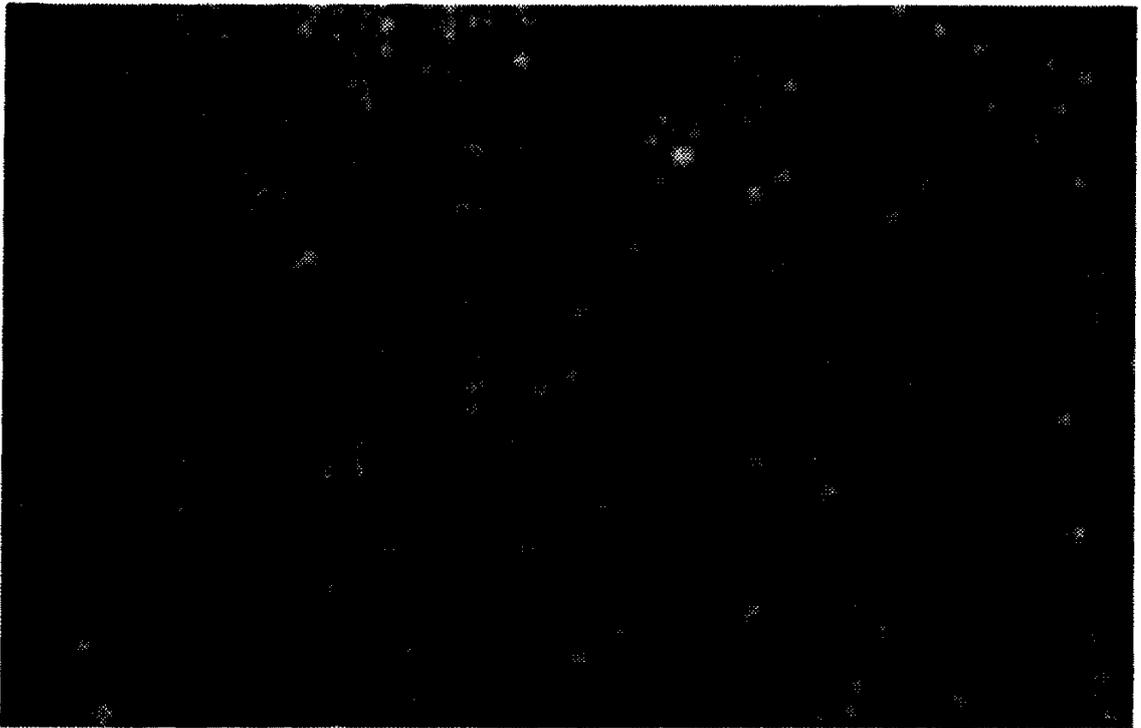
Morfología: no se observaron espermatozoides, se observaron gran número de polimorfonucleares y otras células; formas cocobacilares y bacilares cortas, aisladas y en pares, que se tiñeron de rosado por el Ziehl-Neelsen modificado.

Se aisló *Brucella Ovis* (Cepa 5).



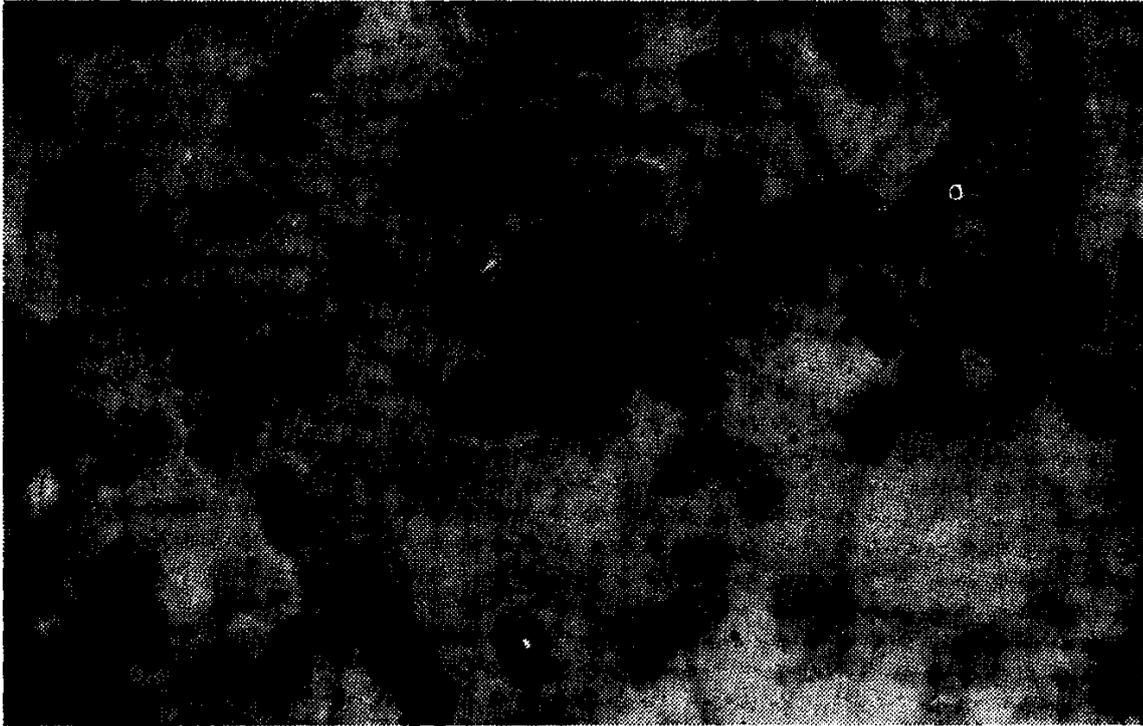
DIAPOSITIVO A.

Colonias de *Brucella ovis*. Placa de agar triptosa sangre de bovino sembrada con semen del carnero 4. Incubación: 5 días a 37°C. con CO₂.



DIAPOSITIVO B.

Idem. que anterior. Mayor aumento.



DIAPOSITIVO C.

Frotis por oposición de superficie de corte del epidídimo derecho (carnero C). Coloración: Gram. Espermatozoides y Brucellas.



DIAPOSITIVO D.

Testículos y epidídimos del carnero 5. Cola del epidídimo derecho algo agrandada. Absceso en el testículo izquierdo.

CONCLUSIONES

Se comprueba por primera vez en el Uruguay la Epididimitis infecciosa de los carneros provocada por *Brucella Ovis* (según nomenclatura propuesta por Buddle).

Se realiza el examen clínico de 253 carneros de una estancia del departamento de Florida, comprobándose en el examen manual de los órganos genitales 6.7 % con lesiones de tipo inflamatorio.

Se efectúa el examen bacteriológico del semen de 42 carneros (23 con lesiones genitales observadas clínicamente y 19 aparentemente normales) aislándose de 8 animales naturalmente infectados una bacteria que por sus características morfológicas, tintoriales, culturales, bioquímicas y serológicas resulta ser *Brucella ovis*.

Se reproduce experimentalmente la enfermedad en los carneros vírgenes, logrando la aparición de síntomas y lesiones típicas y recuperándose *Brucella ovis* del semen y órganos genitales de los animales experimentalmente inoculados.

Las pruebas serológicas de fijación del complemento con sueros de carneros natural y experimentalmente infectados resultaron fuertemente positivas frente a los antígenos de *Brucella ovis* procedentes de Australia y Nueva Zelandia y el preparado con las cepas nativas.

Se realizan estudios comparativos por M. B. Buddle (Walla-ceville Animal Research Station N. Z.) que demuestran que las cepas aisladas en Uruguay son idénticas a las cepas aisladas en Nueva Zelandia.

Se realizan estudios comparativos por E. L. Biberstein (School of Veterinary, Medicine, Agricultural Experiment Station, California) que demuestran que las cepas aisladas en Uruguay son idénticas a las cepas aisladas en EE.UU.

SUMMARY

It has been proved for the first time that the infectious Epididimitis in rams provoked by *Brucella ovis* (a nomenclature proposed by Buddle) is present in the rams in Uruguay.

The clinical test made on 253 rams from a ranch in Florida have proved, by means of the manual examination of the genital organs, that 6.7 % of the rams had inflammatory lesions.

The bacteriological examination of the semen of 42 rams was carried out, (23 of these rams were found to have genital lesions observed clinically and 19 were found to be apparently normal). From 8 of these rams, naturally infected, was isolated a bacteria which by the morphological, stain, cultural, biochemical and serological characteristics proved to be *Brucella ovis*.

The disease was experimentally reproduced in 4 virgin rams, in which appeared the symptoms and typical lesions and from which *Brucella ovis* was recovered from the semen and genital organs.

Serological examination of complement fixation tests which the serum of rams naturally and experimentally infected, using antigens of *Brucella ovis* from Australia and New Zealand and prepared native strains, proved to be strongly positive.

Comparative studies were carried out by M. B. Buddle (Wallaceville Animal Research Station, N. Z.) which show that the strains isolated in Uruguay are similar to those isolated in New Zealand.

Comparative studies were carried out by E. L. Biberstein (School of Veterinary Medicine, Agricultural Experimental Station, California) which show that the strains isolated in Uruguay are similar to those isolated in United States.

AGRADECIMIENTOS

*Deseamos hacer llegar nuestro agradecimiento por la colaboración prestada, en el estudio de las cepas aisladas en nuestro Instituto, envío de antígeno de *Brucella ovis* y sueros, a las siguientes personas:*

Dr. M. B. Buddle, Director de Wallaceville Animal Research Station, Department of Agriculture, Wellington, New Zealand.

Dr. E. L. Biberstein del Department of Microbiology, School of Veterinary Medicine, Agricultural Experiment Station, Davis, California.

Dra. Josephine Symonds del "Institute of Medical and Veterinary Science", Adelaide, South Australia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. —

- 1) Gunn, R. M. C., Sanders, R. M. and Granger, W. Studies in fertility in sheep. Aust. C.S.I.R. Bull. N^o 148 (1942).
- 2) Stamp, J. T., Mc Ewen, A. D., Watt, J. A. A., and Nisbet, D., Vet. Rec., **62**: 251. (1950).
- 3) Mc Farlane D., Ewe abortion and ram esterility. Sheep farming annual, Massey Agric. Coll. N. Z. (1952).
- 4) Mc Farlane, D., Salisbury, R. M., Osborne, H. G., and Jebson, J. L. Investigations into sheep abortion in New Zealand during the 1950 Lambing Season. Aust. Vet. J. **28**: 221 (1952).
- 5) Mac Farlane, D., Jebson, J. L., Hartley, W. J., Salisbury, R. M., Mc Clure, T. J. and Osborne H. G., Ram epididymitis, ewe abortion and lamb neanatal mortality. Aust. Vet. J. **28**: 226 (1952).
- 6) Simmons, G. C., and Hall, W. T. K. — Epididymitis of rams; preliminary studies on the occurrence and pathogenicity of a Brucella-like organism. Aust. Vet. J. **29**: 33-40 (1953).
- 7) Simmons, G. C., and Hall, W. T. K. — Epididymitis of rams. The Aust. Vet. J. **31**: 7 (1953).
- 8) Buddle, M. B. y Boyes, B. W. — A brucella mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. Aust. Vet. J. **29**: 145-53 (1953).
- 9) Hartley, W. J., Jebson, J. L. and Mc Farlane, D. — The artificial infection of sheep with a Brucella like organism. 1 and 2 N. Z. Vet. J. **2**: 80-5, 85-9 (1954).
- 10) Hartley, W. J., Jebson, J. L. and Mc Farlane, D. — Some observations on natural transmission of ovine brucellosis. N. Z. Vet. J. **3**: 5-10 (1955).
- 11) Jebson, J. L., Hartley, W. J., Mc Clure, T. J. and Mc Farlane, D. — Pathology of Brucellosis in rams in New Zealand. The New Zealand. Vet. J. **3**: 100 (1955).
- 12) Buddle, M. B. — Observations on the transmission of brucella infection in sheep. The N. Z. Vet. J. **3**: 10 (1955).
- 13) Clapp, H. — A complement fixation test for the diagnosis of ovine brucellosis with special reference to epididymitis. The Aust. Vet. J. **3**: 27 (1955).
- 14) Mc Farlane, D. — Neonatal lamb mortality in the Gisborne area. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. **15**: 104 (1955).
- 15) Osborne, H. G. — Epididymitis of rams. Aust. Vet. J. **31**: 11 (1955).
- 16) Watts, P. S. — Genital infections of sheep with particular reference to Brucella-like organisms. Aust. Vet. J. **31**: 1 (1955).
- 17) Wellington, N. A. M. — Epididymitis of rams. Aust. Vet. J. **31**: 10 (1955).
- 18) Clapp, K. H., Symons, L. E. A. and Doolette, J. B. — The application of a complement fixation test to the diagnosis of ovine brucellosis. Aust. Vet. J. **31**: 29 (1955).
- 19) Hartley, W. J., and Boyes, B. — The bacteriology of lamb mortality. — Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. **15**: 120 (1955).
- 20) Kennedy, P. C., Frazier, L. M. and Mc Gowan, B. — Epididymitis in rams. Pathology and Bacteriology. The Cornell Veterinarian **46**: 303-19 (1956).
- 21) Buddle, M. B. — Ovine Brucellosis in New Zealand. Proc 3 rd. Internat. Con. Anim. Reprod. Cambridge **2**: 37-8 (1956).
- 22) Buddle, M. B. Studies of brucellosis (n. sp.) A cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. J. Hyg. **54**: 351 (1956).

- 23) Mc Gowan, B., and Shultz, G. — Epididymitis of rams: clinical description and field aspects *Cornell Vet.* **46**: 277-81 (1956).
- 24) Meyer, M. E., and Cameron, H. S. — Studies on the etiological agent of epididymitis in rams. *Amer. J. Vet. Res.* **17**: 495-7 (1956).
- 25) Biberstein, E. L. and Mc Gowan, B. — Epididymitis in rams: studies on laboratory diagnosis. *Cornell Vet.* **48**: 31-44 (1956).
- 26) Durán del Campo, A. — Conceptos generales sobre epididymitis ovina. Breve consideraciones sobre la incidencia de esta afección en carneros del Uruguay. *Bol. Inf. Min. de Gan. y Agr. Nos. 717 y 718* (1958).
- 27) Edgar, G. — The detection of *Brucella ovis* infections in rams. *The New Zealand, Vet. J.* **7**: 64 (1959).
- 28) Gorrie, C. J. R. — Diagnostic of sheep brucellosis. *Aust. Vet. J.* **35**: 500-501 (1959).
- 29) Buddle, M. B. — Infection á "*Brucella ovis*" chez le mouton en Nouvelle Zelande. *Off: International Epi 12. Rpt. XXVII Sesion.*
- 30) Mc Gowan B. and Devine, D. R. — Epididymitis of rams. The efect of the naturally occurring disease upon fertility. *The Cornell Vet.* **50**: 102-106 (1960).