

Tesis para optar
al grado académico de
Doctor en Ciencias Veterinarias

**ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS Y
PATOLOGICOS EN GENTALES
DE TOROS PROCEDENTES
DE MATADERO**

por

ANA LIBERTAD CIPOLLA

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

1989

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Presidente

Dr. ANGEL LUIS PLASTINO

Vice Presidente

Ing. OMAR ALFREDO IGLESIAS

Secretario General

Ing. MARCELO RASTELLI

Secretario de Asuntos Académicos

Lic. JULIO CESAR BARANDIARAN

Secretario de Asuntos Jurídico-Legales

Abog. Marcelo Miguel VAMPA

Secretario de Asuntos Económico-Financieros

Cr. ALDO HUGO ROSSI

Secretaria de Ext. Cultural y Difusión

Prof. SILVIA KNIGHT DE CARRIQUIRIBORDE

Guardasellos

Ing. Agr. ANDRES RINGUELET

Prosecretario General

Dr. GUILLERMO PABLO CASTELLARI

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Decano

Méd. Vet. HORACIO N. VALENTI

Vice-Decano

Dr. JORGE O. ERRECALDE

Secretario de Asuntos Académicos

Dr. Andrés BALDO

Secretario de Supervisión Administrativa

Dr. JORGE OMAR KOLEFF

Honorable Consejo Académico

CONSEJEROS ACADEMICOS DOCENTES

Bac. Raquel Eugenia FELMAN

Dr. Emilio J. GIMENO

Dr. César F. ORTEGA

Dra. Virginia Estela GRILLO

Dr. Jorge O. ERRECALDE

Dr. Francisco BOCCIA

CONSEJEROS ACADEMICOS GRADUADOS

Bact. Catalina Tesoriero de Gadeis

Bact. Celia Mónica ALT

CONSEJEROS ACADEMICOS ALUMNOS

Sr. Juan José FIORAMONTI

Sr. Sergio E. GONZALEZ

Sr. Carlos G. FERRARI

Sr. Sergio E. ROSSI

DOCTORADO EN CIENCIAS VETERINARIAS

CATEDRAS

PROFESORES

PRIMER AÑO

ANATOMIA DESCRIPTIVA	Dra. Cristina ALONSO
HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA	Dr. Julio OTTINO
INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA	Méd. Vet. Angel CATALA
INTRODUCCION A LA BIOFISICA	Dr. Miguel Angel NOIA

SEGUNDO AÑO

ANATOMIA COMPARADA	Dra. Cristina ALONSO
PATOLOGIA GENERAL	Dr. Alcides A. MARTIN
FISIOLOGIA	Dr. Edmundo R. ROJAS
MICROBIOLOGIA	Dr. Juan J. MARTINO
GENETICA Y BIOMETRIA	Dr. Indalecio R. QUINTEROS

TERCER AÑO

ANATOMIA Y FISIOLOGIA PATOLOGICA	Dr. Alcides A. MARTIN
SEMILOGIA Y PROPEDEUTICA	Dr. Jorge N. ANDREATTA
FARMACOLOGIA, FARMACOT. Y TERAPEUTICA	Dr. Jorge O. ERRECALDE
MEDICINA OPERATORIA	Dr. Pablo D. VIDELA
PARASITOLOGIA Y ENF. PARASITARIAS	Dr. Eugenio BRANDETTI
ZOOTECNIA GRAL. Y AGROSTOLOGIA C/A.	Dra. Liliana LAGRECA

CUARTO AÑO

ZOOTECNIA ESPECIAL I PARTE (O.S.C.)	Dr. Eduardo G. MAROTTA
ZOOTECNIA ESPECIAL II PARTE (B.E.)	Dr. Benjamín RODRIGUEZ
ZOOTECNIA ESPECIAL III PARTE (A.P.)	Dr. Rodolfo M. PEROTTI
ECONOMIA AGRARIA	Dr. Erico E. PANZONI
ENFERMEDADES INFECCIOSAS	Dr. Enrique J. FERNANDEZ
PATOLOGIA MEDICA	Dr. Fortunato B. ISEAS
PATOL. QUIRURGICA Y PODOLOGIA	Dr. Francisco O. BOCCIA
PATOL. DE AVES Y PILIFEROS	Dr. Néstor A. MENENDEZ

QUINTO AÑO

TECNOLOGIA Y SANIDAD DE LOS ALIMENTOS

Dra. María del A. PENNIMPEDE

HIGIENE EPIDEMIOLOGIA Y SALUD PUBLICA

Dr. Emilio J. GIMENO

INMUNOLOGIA GRAL. APLICADA

Dr. Enrique F.F. PENNIMPEDE

REPRODUCCION ANIMAL

Dr. Jorge E. B. OSTROWSKI

CLINICA DE PEQUEÑOS ANIMALES

Dra. Lydia C. PRACCA

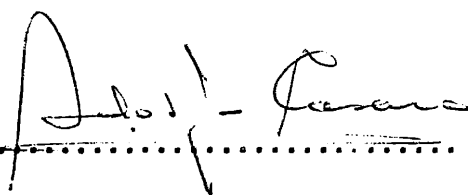
CLINICA DE GRANDES ANIMALES

Méd. Vet. Juan F. RENNER

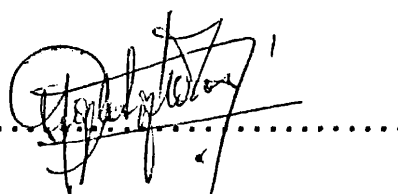
ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS EN GENITALES DE TOROS PROCEDENTES DE MATADERO.

Trabajo de Tesis realizado durante un período de 2 años correspondientes a un proyecto de Beca de Iniciación de CONICET.

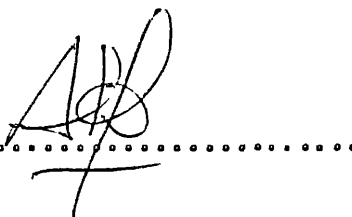
Este trabajo se efectuó en la E.E.A. - INTA BALCARCE - Departamento de Producción Animal - Laboratorios de Bacteriología y Patología.

Director de Tesis: 

Dr. ADOLFO P. CASARO

Asesora de Tesis: 

Med. Vet. ANGELA S. ZAMORA

Tesista: 

Med. Vet. ANA L. CIPOLLA

Dedicación

A mis padres, de quienes siempre he obtenido el apoyo incondicional y necesario para el logro de mis objetivos.

INDICE

	Pág.
1. Introducci3n	1
1.1. Antecedentes generales	1
1.2. Brucelosis	7
1.2.1. Definici3n	7
1.2.2. Incidencia	7
1.2.3. Etiologfa	8
1.2.4. Patogenia y transmisi3n	10
1.2.5. Cuadro clfnico-patol3gico	12
1.2.6. Diagn3stico	13
1.2.7. Profilaxis	20
1.3. Micoplasmosis	22
1.3.1. Definici3n	22
1.3.2. Incidencia y caracterizaci3n de la micoplasmosis genital bovina	22
1.3.3. Etiologfa	25
1.3.4. Patogenia	25
1.3.5. Diagn3stico	26
1.3.6. Profilaxis y tratamiento	27
1.4. Leptospirosis	29
1.4.1. Definici3n	29
1.4.2. Incidencia	29
1.4.3. Etiologfa	31
1.4.4. Epidemiologfa	31
1.4.5. Patogenia	32
1.4.6. Cuadros clfnico-patol3gicos	33
1.4.7. Diagn3stico	34
1.4.8. Tratamiento	40
1.4.9. Profilaxis	40
1.5. Recordatorio de la anatomfa, histologfa y fisiologfa del aparato reproductor del macho bovino	41
1.5.1. Desarrollo genital en el perfdodo fetal	41
1.5.2. Organos genitales en el animal adulto	47
1.5.2.1. Escroto	47
1.5.2.2. Testfculos	48
1.5.2.2.1. Barrera hematotesticular	53
1.5.2.2.2. Control hormonal de la funci3n testicular	54

	viii
1.5.2.3. Epidídimos	55
1.5.2.4. Conducto deferente	56
1.5.2.5. Glándulas accesorias	56
1.5.2.5.1. Vesículas seminales	57
1.5.2.5.2. Próstata	57
1.5.2.5.3. Glándulas Bulbouretrales	58
1.5.2.6. Prepuce	58
1.5.2.7. Pene	60
1.6. Antecedentes sobre alteraciones patológicas de órganos genitales registradas en toros	65
1.6.1. Prepuce y pene	65
1.6.2. Testículos	65
1.6.2.1. Anomalías congénitas y del desarrollo	65
1.6.2.2. Alteraciones patológicas adquiridas	70
1.6.3. Epidídimos	73
1.6.4. Vesículas seminales	75
1.6.5. Afecciones en otras glándulas anexas	76
2. Objetivos	78
3. Materiales y métodos	79
3.1. Animales	79
3.2. Recolección de muestras	79
3.3. Estudios microbiológicos	79
3.3.1. Brucelosis	79
3.3.1.1. Procesamiento bacteriológico	79
3.3.2. Bacterias aerobias	81
3.3.3. Micoplasmosis	81
3.3.3.1. Cepas de referencia	81
3.3.3.2. Reconstitución de las cepas	82
3.3.3.3. Obtención y procesamiento de las muestras	83
3.4. Estudios serológicos	83
3.4.1. Brucelosis	84
3.4.1.1. Prueba rápida en placa	84
3.4.1.2. Prueba lenta en tubo	85
3.4.1.3. Prueba del 2-mercaptoetanol	85

	Pág.
3.4.1.4. Prueba del rivanol	86
3.4.1.5. Prueba de la tarjeta	86
3.4.1.6. Fijación de complemento	86
3.4.2. Leptospirosis	87
3.5. Estudios morfológicos	87
3.5.1. Anomalías macroscópicas	87
3.5.2. Estudios histopatológicos	88
3.6. Análisis estadístico	88
4. Resultados	89
4.1. Animales	89
4.2. Estudios microbiológicos	91
4.2.1. Brucelosis	91
4.2.2. Bacterias aerobias	99
4.2.3. Micoplasmosis	99
4.3. Estudios serológicos	100
4.3.1. Brucelosis	100
4.3.2. Leptospirosis	104
4.4. Estudios morfológicos	106
4.4.1. Medidas y pesos para todos sin alteraciones patológicas	106
4.4.2. Alteraciones patológicas	110
4.4.2.1. Estudios macroscópicos	110
4.4.2.1.1. Escroto	110
4.4.2.1.2. Prepucio	110
4.4.2.1.3. Pene	110
4.4.2.1.4. Testículos	113
4.4.2.1.5. Epidídimos	115
4.4.2.1.6. Vesículas seminales	117
4.4.2.1.7. Ampollas de los conductos deferentes	119
4.4.2.2. Estudios histopatológicos	120
4.4.2.2.1. Pene y prepucio	120
4.4.2.2.2. Testículos epidídimos y vesículas seminales	120
4.4.2.2.3. Testículos	121
4.4.2.2.4. Epidídimos	132
4.4.2.2.5. Vesículas seminales	134
4.4.2.2.6. Ampollas de los conductos deferentes	137

5. Discusión	138
5.1. Estudios microbiológicos	141
5.1.1. Brucelosis	141
5.1.2. Bacterias aerobias	145
5.1.3. Micoplasmosis	146
5.2. Estudios serológicos	147
5.2.1. Brucelosis	147
5.2.2. Leptospirosis	150
5.3. Estudios morfológicos	153
5.3.1. Medidas y pesos para toros sin alteraciones	153
5.3.2. Alteraciones patológicas	154
5.3.2.1. Escroto	154
5.3.2.2. Prepucio	154
5.3.2.3. Pene	156
5.3.2.4. Testículos	158
5.3.2.5. Epidídimos	165
5.3.2.6. Vesículas seminales	168
5.3.2.7. Ampollas de los conductos deferentes	172
6. Conclusiones	174
6.1. Estudios microbiológicos	174
6.1.1. Brucelosis	174
6.1.2. Bacterias aerobias	174
6.1.3. Mycoplasmosis	174
6.2. Estudios serológicos	174
6.2.1. Brucelosis	174
6.2.2. Leptospirosis	175
6.3. Estudios morfológicos	175
6.3.1. Alteraciones patológicas	175
7. Apéndice	176
8. Fotografías	180
9. Resumen	206
10. Summary	207
11. Agradecimientos	208
12. Bibliografía	210

1 - INTRODUCCION

1.1- Antecedentes generales

Durante mucho tiempo la investigación sobre los problemas que afectan la fertilidad de los rodeos, fue dirigida casi exclusivamente a la hembra. Debido a ello muchos de los estudios relacionados con fallas reproductivas en bovinos, han sido realizados en genitales femeninos (Donaldson y col., 1967; Rogers y col., 1972; Miller y Campbell, 1978).

La brucelosis, leptospirosis, vibriosis y trichomoniasis han sido reconocidas universalmente como enfermedades que conspiran contra la eficiencia reproductiva de los rodeos.

En los últimos años se ha difundido la investigación sobre los mycoplasmas, y esto obedece a que dichos microorganismos han sido aislados de bovinos con lesiones del tracto reproductor (Hirth y col., 1966; Afshar, 1967; Cotew, 1970; Panangala y col., 1982).

Si bien todas estas enfermedades se caracterizan fundamentalmente por producir infertilidad y abortos, algunas han sido individualizadas por provocar trastornos en el aparato genital del macho.

Algunos trabajos efectuados sobre las alteraciones patológicas en órganos genitales de toros faenados, procedentes de rodeos con historia de baja fertilidad, han permitido mejorar el conocimiento de las condiciones que determinan desórdenes reproductivos.

Desde hace algunos años se ha enfatizado el estudio de las alteraciones patológicas en genitales del toro, como consecuencia de dos factores: 1) La infertilidad del macho y su efecto en la producción de carne y leche; 2) el rol desempeñado por el macho en la difusión de las enfermedades venéreas (Galloway, 1961; Bagshaw y Ladds, 1974 a; Bagshaw y Ladds, 1974 b; Humphrey y Ladds, 1978 a).

La necesidad de establecer diagnósticos diferenciales de noxas que afectan el aparato reproductor del macho, ha planteado el desarrollo de líneas de trabajo tendientes a identificar varios de los agentes involucrados en estas enfermedades.

La infección por Brucella abortus (Br. abortus) en el toro, si bien

no tiene importancia bajo el punto de vista de la transmisión de la enfermedad, produce lesiones significativas en los órganos genitales. En este caso el diagnóstico serológico presenta dificultades en su interpretación (Plant y col., 1976). En la mayoría de los toros infectados se observan títulos aglutinantes bajos en las pruebas serológicas, no conociéndose la verdadera causa de este fenómeno (Christie y col., 1968) aunque las reacciones inespecíficas producidas por algunas bacterias (Yersinia enterocolitica serotipo O9, Campylobacter fetus, Pasteurella sp., Salmonella sp., etc.) o el carácter crónico de la enfermedad podrían en algún modo explicarlo (Rankin, 1965; Mittal y Tizard, 1981). La complejidad del diagnóstico de brucelosis en el toro radica en las diferencias observadas entre los estudios serológicos, bacteriológicos y patológicos. Sin embargo, aún teniendo en cuenta esta consideración, pocos han sido los trabajos publicados en la bibliografía internacional sobre brucelosis en toros (Lambert y col., 1963, Rankin, 1965; Mc Caughey y Purcell, 1973; Plant y col., 1976; Mc Cool y Hooper, 1977 ; Yantorno y col. 1979; Trichard y col., 1982).

Se ha mencionado que la frecuencia de localización de Br. abortus en el tracto genital masculino, depende de la concentración de eritritol, y de acuerdo a ello, sería en el siguiente orden: vesícula seminal, epidídimo y testículo (Keppie, 1964; Christie y col., 1968).

En nuestro país Cedro y col. (1967, 1968) efectuaron un relevamiento sobre brucelosis en 431 toros de faena, evaluando la relación entre serología y bacteriología. No siempre coincidieron los resultados entre los diferentes estudios realizados. Estos autores recuperaron Br. abortus en 13 sobre 177 animales negativos a la prueba rápida en placa. La bacteria se aisló de 44 sobre 431 animales revisados (11%). Sólo en 17 toros coincidieron los resultados entre la serología, el aislamiento y las lesiones macroscópicas.

Los Mycoplasmales han sido asociados con problemas reproductivos, aunque el conocimiento de la relación causa - efecto no ha sido esclarecido totalmente (Gourlay, 1973). Estos organismos fueron aislados del tracto genital femenino y masculino en animales con problemas de fertilidad y también del aparato reproductor en animales sanos (Afshar, 1967; Cotew, 1970; Ernp y Blom, 1972; Jasper y col., 1974; Afshar, 1975; Naglic, 1977; Doig, 1981).

Se han citado casos de abortos a Mycoplasma spp (O'Berry y col., 1966;

Rosenfeld y Hill, 1980) aunque el verdadero rol como agentes abortivos no está aún bien dilucidado.

En el macho los mycoplasmas pueden provocar cuadros de vesiculitis, tanto en forma natural como experimental (Ernő y Blom, 1972; Panangala y col., 1982). Se ha comprobado el efecto de estos microorganismos sobre el semen bovino produciendo disminución de la motilidad espermática, aumento del porcentaje de espermatozoides muertos y menor sobrevivencia al descongelado (Parsonson y col., 1974; Jurmanova y Sterbova, 1977; Hall y McEntee, 1981; Panangala y col., 1982).

Microorganismos tales como Corynebacterium spp, Actinobacillus spp, Haemophilus spp, Streptococcus spp, Stafilococcus spp, Mycobacterium spp, Chlamydia y algunos virus, como el de la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR); enterovirus, papovavirus y reovirus, entre otros, han sido aislados en reiteradas oportunidades del aparato genital de toros con lesiones manifiestas (Jones y col., 1964; Casaro y Ballabene, 1970/71; Larsen y Kopecky, 1970; Bagshaw y Ladds, 1974 a; Humphrey y Ladds, 1975.a).

El efecto directo de la leptospirosis en el ganado bovino, se manifiesta principalmente por abortos y muerte de animales jóvenes, observándose también disminución en la producción lechera a causa de las mastitis a leptospires, principalmente por Leptospira interrogans serovar hardjo (Amatredjo y Campbell, 1975). La patogenicidad de las leptospires en genitales masculinos había sido lograda sólo experimentalmente, pero el aislamiento del serovar hardjo del tracto genital en toros naturalmente infectados (Ellis y col., 1986 a), nos induce a pensar en el probable efecto clínico - patológico de este serovar sobre el aparato reproductor del toro, aunque ello aún no ha sido demostrado. El serovar hardjo ha sido recuperado del tracto genital de vacas, pudiendo persistir en dicho tracto tanto en casos de infección natural como experimental (Ellis y col., 1985; Ellis y col., 1986.b; Ellis y Thiermann, 1986); debido a ello se ha postulado la posible transmisión venérea de este serovar. Así, ya sea por infección renal (para todos los serovares) o genital (para el caso del serovar hardjo) a través de la uretra, el toro actúa como difusor de la enfermedad mediante el servicio natural, o por inseminación artificial cuando se utilice semen que no ha sido tratado en forma adecuada (Stalheim y col., 1979).

En algunos países como Australia se han llevado a cabo varios estu-

dios sobre las lesiones del aparato reproductor de toros, con el fin de evaluar la incidencia de las mismas en la reproducción bovina (Galloway, 1961; Bellenger, 1971; Ladds y col., 1973; Mosaheb y Ladds, 1973; Bagshaw y Ladds, 1974 a, 1974 b; Turnbull, 1977). Así, Galloway (1961) efectuó un relevamiento en frigorífico sobre alteraciones testiculares en 326 toros y entre otras afecciones, encontró en el 21,5% de los casos, degeneración testicular y en el 96,9% adherencias entre las capas parietal y visceral de la túnica vaginal. Bellenger (1971) informó que un 20,5% de los toros son enviados a faena por afecciones genitales. El autor estimó que los desórdenes genitales parecen ser una causa significativa en toros, durante los primeros tres años de su vida reproductiva. Bagshaw y Ladds (1974 b) efectuaron estudios sobre microbiología y patología de las glándulas sexuales accesorias en 521 toros faenados, diagnosticando vesiculitis en el 10% de los animales. Los autores consideraron que de los 47 casos de vesiculitis diagnosticados en esa oportunidad , sólo el 2,7% podría haberse detectado por palpación rectal. Se obtuvo aislamiento de Corynebacterium pyogenes en 2 ocasiones. Este organismo es aislado frecuentemente en los casos de vesiculitis seminal (Ball y col., 1968). En Estados Unidos, Carroll y col., (1963) revisaron clínicamente 10.940 toros y evaluaron la calidad seminal, encontrando un 17,6% de animales afectados por lesiones testiculares, un 1% por alteraciones epididimarias, un 3,5% por anomalías peneanas y un 5% por trastornos genitales internos.

En Argentina, muy pocos han sido los trabajos efectuados sobre alteraciones genitales en toros. Así, Ostrowski (1963) informó sobre 543 toros examinados para evaluar su aptitud de fertilidad, encontrando un 18,6% de animales no aptos por problemas en sus órganos genitales y/o semen y un 27,9% de reactores brucelosos. Posteriormente, Jakobsen y col. (1967) realizaron un trabajo sobre fertilidad potencial en 142 toros, detectando un 6,3% con lesiones testiculares, un 4% con alteraciones seminales y un 2,4% de reactores brucelosos. Casaro y Ballabene (1970/71) revisaron el tracto genital de 29 toros de matadero y entre las alteraciones más frecuentes citaron casos de adherencias de la túnica vaginal y nódulos prepuciales y peneanos, encontrados en 21, 13 y 12 toros respectivamente. Villar y col. (1987) han descripto recientemente brotes de vesiculitis en el 18,6% de 489 toros controlados clínicamente. Estos animales tenían títulos a IBR y en 2 de ellos se aisló herpes virus del prepucio. Los autores detectaron además un 6% de toros con epididimitis, orquitis y erosiones en la mucosa peneana.

Actualmente en los países desarrollados los toros son sometidos a exámenes que permiten asegurar no sólo la sanidad del mismo sino la funcionalidad para la cual es elegido. Estos exámenes involucran: el examen físico general; el examen genital, las pruebas diagnósticas específicas; las pruebas complementarias (libido, habilidad copulatoria, comportamiento social); la evaluación seminal y otras pruebas (Campero, 1985). En el examen físico general, se contemplan los antecedentes del animal, su correspondiente identificación, su dentadura y la revisión clínica, que está dirigida principalmente al área locomotora y visual. En el examen genital, se revisan cuidadosamente los genitales externos mediante observación y palpación y los internos por palpación rectal. Las pruebas diagnósticas comprenden detección de enfermedades tales como: tuberculosis, brucelosis, trichomoniasis, campylobacteriosis, leptospirosis y algunas virosis. Las pruebas complementarias que incluyen la prueba de libido y comportamiento social, si bien son importantes, no tienen relación de valor con el estado sanitario del toro. Es decir, toros con excelente fertilidad pueden tener baja libido o baja dominancia, o viceversa. En la evaluación seminal, se considera el volumen, la morfología, concentración y movilidad del esperma.

A partir de la última década se ha promovido el empleo de técnicas que permitan conocer de un modo más práctico el estado reproductivo del toro. Así, la medida de la circunferencia escrotal (C.E.) constituye una excelente herramienta para estimar la producción espermática potencial de un animal. Ello se debe a que la C.E. está altamente correlacionada con el peso testicular y la producción seminal (Foote, 1978; Coulter y Foote, 1979; Coulter, 1980). Aunque parezca utópico, recién después de efectuadas todas estas pruebas, estaríamos en condiciones de decidir si el destino de un toro es permanecer como reproductor en el campo o ser enviado a frigorífico.

Bellenger (1971) ha considerado que entre las causas más frecuentes de descarte se encuentran la edad, los problemas locomotores, las afecciones genitales y eventualmente el factor económico por las fluctuaciones del mercado. Se desconoce en qué porcentaje éstas y otras causas determinan el envío de un toro a faena.

No debemos olvidar que las lesiones en el aparato genital a veces no son detectadas al examen clínico. Por otra parte en nuestro medio, salvo en casos excepcionales, la revisión de los genitales se efectúa conjun-

tamente con la evaluación del semen. Esto dificulta aún más la posibilidad de llegar a conocer exactamente en qué grado los toros se ven afectados por lesiones del aparato reproductor. Teniendo en cuenta la importancia del macho en la fertilidad de los rodeos y considerando que en nuestro medio se carece de información actualizada sobre la ocurrencia de afecciones genitales en toros, se decidió realizar el presente trabajo.

1.2. BRUCELOSIS

1.2.1. Definición

La brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa causada por microorganismos del género Brucella, cuya manifestación clínica más importante es el aborto. Es cosmopolita, y una de las principales zoonosis (De Diego, 1981).

1.2.2. Incidencia

La distribución de la brucelosis bovina es mundial. Según datos de la Oficina Internacional de Epizootias, correspondientes al año 1983, 126 países han comunicado la infección de su ganado con Brucella abortus (Di Lorenzo, 1986). Las tasas de infección varían con las zonas y el tipo de explotación (Acha y Szyfres, 1977; De Diego, 1981). Aunque la información sobre la prevalencia es inadecuada, hay indicaciones de una muy alta incidencia en muchas áreas, particularmente en los trópicos y en países que menos pueden abastecer las pérdidas en producción lechera y en proteína animal, que acompañan a la enfermedad. Los niveles de incidencia tienden a ser relativamente altos en establecimientos organizados, donde éstos tienen ganado salvaje o razas introducidas. Tal es el caso de Africa e Indo-Pakistan, donde Br. abortus biotipo 1 es más frecuente en el tipo de rodeo encontrado en estos establecimientos y la enfermedad presenta los signos clásicos de abortos, como aquellos descritos en las zonas templadas. (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

Para España y Francia el porcentaje de infección se calcula en un 8% (De Diego, 1981). En nuestro continente, Cuba, Canadá y Estados Unidos han logrado controlar la enfermedad mediante programas de erradicación. De acuerdo a la Oficina Internacional de Epizootias en 1983, se estimó para América una prevalencia que varía entre 0,8% (para Uruguay) y 22% (para Honduras).

En Argentina los datos de incidencia difieren del pasado al presente. Así, en 1947 Rossi le asigna a la brucelosis bovina, una tasa de infección del 20%, correspondiente a animales de tambo. En 1954, según Cedro y Jurado, dicha tasa oscila entre 23% y 25%. En el período comprendido entre 1963-1971, SENASA informa sobre una tasa de alrededor del 12% (Di Lorenzo, 1986). Para De Diego (1981) la cifra no sería inferior al 17%. Según la Oficina Internacional de Epizootias, en 1983 la Argentina no sobrepasaba de un porcentaje del 11% (Di Lorenzo, 1986). En nuestro país la brucelosis sigue siendo una de las principales enfermedades que afectan la producción de carne y leche

Según datos del Boletín Sanitario Regional (1987), en el área Sudeste de la Provincia de Buenos Aires, el porcentaje de morbilidad en brotes producidos en los partidos de Azul y Olavarría, ha alcanzado un 25% y 40% respectivamente.

Entre los pocos trabajos efectuados sobre brucelosis en toros, pueden citarse los siguientes: en Estados Unidos, Lambert y col. (1963) recuperaron Brucella abortus de 2 toros infectados naturalmente. La bacteria se aisló de testículos, epidídimos, vesículas seminales y ampollas de los ductos deferentes.

En Irlanda del Norte, Rankin (1965) realizó un ensayo sobre brucelosis con un total de 12 toros, para estudiar la patogenia de la enfermedad en esta categoría de animales. El autor logró aislar Brucella abortus biotipo 1 en el 50% de los toros analizados. Posteriormente Mc Caughey y Purcell (1973) informaron que los toros no han significado un gran problema en los programas de erradicación de ese país, pero sin embargo han existido dificultades en lo que respecta al diagnóstico serológico, debido a los bajos títulos encontrados. Sólo fue detectado un caso de brucelosis en un toro, durante un período de 4 años. Brucella abortus biotipo 1 se aisló del semen de este animal.

En Australia, Mc Cool y Hooper (1977) aislaron Brucella abortus biotipo 1 de un toro con orquitis unilateral. A este animal se le extrajo el testículo afectado, y luego se lo empleó en servicio natural con un lote de hembras vacunadas. Las vacas parieron normalmente y sus sueros fueron todos negativos al test de fijación de complemento después de la parición.

En Sud-Africa, Trichard y col. (1982) diagnosticaron un caso de orquitis unilateral en un toro Bramman, causada por Brucella abortus biotipo 1. El microorganismo fue aislado de los testículos, epidídimos, vesículas seminales, ampollas de los conductos deferentes y ganglios linfáticos lumbares e ilíacos.

En Argentina, Cedro y col. (1967, 1968) aislaron 44 cepas de Br. abortus sobre un total de 431 toros de frigorífico. Dichas cepas fueron aisladas de órganos genitales y ganglios linfáticos. Posteriormente Yantorno y col. (1979) evaluaron el efecto de la cepa 19 de Br. abortus sobre el aparato genital de machos bovinos y lograron obtener resultados positivos a la bacteriología, patología y serología.

1.2.3. Etiología

Los bovinos son afectados normalmente por Br. abortus, pero también

pueden llegar e infectarse con Brucella melitensis y Brucella suis (Merchant y Packer, 1970; Acha y Szyfres, 1977).

La primera descripción de Brucella abortus es la que data de 1897 y es la que corresponde a Bang, quien la aisló en Dinamarca, a partir de material de vacas abortadas. Los primeros hallazgos en Argentina, corresponden a las descripciones de Bernier en 1892 sobre casos de abortos en vacas, aunque según Fitte, ya existía en La Rioja desde 1540 (De Diego, 1981).

Brucella abortus es un coccobacilo Gram negativo de 0,5-0,7 μ de diámetro por 0,5-1,5 μ de longitud, inmóvil, no forma endosporas, es aerobio y anaerobio facultativo (Buchanan y col., 1974; Corbel y col., 1978). Estos microorganismos crecen lentamente, necesitando medios especiales que contengan glicerina, suero, sangre, extracto de hígado, dextrosa, o medios comerciales como tripticase soja, agar triptosa, Albimi o cualquier agar base sangre de buena calidad, suplementado con suero (Robertson y col., 1977; Davis y col., 1978; De Diego, 1981; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

En primoincubaciones necesita una atmósfera de 5 a 10% de CO₂, pero luego desarrolla a tensión normal de oxígeno. Las colonias son pequeñas, circulares y translúcidas; aparecen generalmente entre 7-14 días de incubación, pero a veces los cultivos pueden tardar más de 30 días en desarrollarse (Alton y Jones, 1964; Merchant y Packer, 1970; Corbel y col., 1978; De Diego, 1981, Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). Las colonias de las brucelas pueden sufrir disociación. Existen formas lisas (S) y no lisas, que pueden ser rugosas (R) o mucoides (M). Se han descrito también formas intermedias entre los tipos S y R (formas SI e I). Esta disociación se basa en la morfología de las colonias, su apariencia bajo luz reflejada después de tñirlas con cristal violeta, la reacción de aglutinación con solución de acriflavina, o con antisuero al antígeno R de las cepas rugosas y la acción lítica por el fago R (Corbel y col., 1978; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

Brucella abortus es catalasa negativa, oxidasa negativa, reduce los nitratos, resulta negativa a las pruebas del Voges Proskauer y rojo de Metilo y es ureasa positiva; el contenido de G+C en el DNA es de 56-58 mol % (Buchanan y col., 1974; Corbel y col., 1978).

La estructura antigénica de las brucelas está compuesta principalmente por complejos lipopolisacáridos (LPS) lisos y rugosos (S-LPS y R-LPS) y dos polisacáridos relacionados: un hapteno nativo (NH) y un polisacárido B. También poseen al menos 20 antígenos glicoproteicos o proteínas. Los antígenos LPS se localizan en la superficie y los proteicos en el soma bacteriano (Co-

mité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). Los LPS son responsables de la actividad endotóxica de las bacterias (Di Lorenzo, 1986). Las reacciones cruzadas con *Escherichia coli* O:116 y O:157 y algunas especies de *Yersinia*, *Pasteurella*, *Salmonella*, *Vibrio* y *Pseudomona*, involucran la fracción carbohidrato de los S-LPS (Mittal y Tizard, 1981; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). Se han descrito como variedad antigénica 9 biotipos, de los cuales el 1, 2 y 4 se han hallado en bovinos y humanos de Argentina (García Carrillo y col., 1972; García Carrillo y col., 1985; Gonzalez Tomé y col., 1985). El biotipo 6 se ha encontrado en zorros (De Diego, 1981).

La clasificación de las especies y biotipos se efectúa de acuerdo con propiedades morfológicas, culturales, metabólicas y serológicas. Las pruebas convencionales utilizadas son: el requerimiento de CO₂, la tolerancia a los colorantes, la producción de SH₂, la actividad ureasa, la aglutinación con antisueros monoespecíficos, la lisis por fagos y la oxidación de distintos aminoácidos y carbohidratos (Alton y Jones, 1964; Corbel y col., 1978; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La cepa 19 de Br. abortus a diferencia de Br. abortus biotipo 1 no requiere CO₂, no crece en presencia de eritritol y de azul tionina y es sensible a la penicilina en concentraciones de 5 y 10 U.I. (Corbel y col., 1978).

1.2.4. Patogenia y transmisión

La fuente principal de infección son los fetos, envolturas fetales y descargas vaginales que contienen gran cantidad de microorganismos; también la materia fecal de terneros alimentados con leche contaminada puede contribuir a la infección (Acha y Szyfres, 1977).

La infección se produce a través de las membranas mucosas de la orofaringe, las vías respiratorias superiores y la conjuntiva. La transmisión venérea no tiene importancia en condiciones de servicio natural. (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). El semen infectado constituye un verdadero peligro cuando se emplea en inseminación artificial por vía intrauterina (Acha y Szyfres, 1977). Se ha postulado también la penetración de bruceas a través de la piel (Acha y Szyfres, 1977; De Diego, 1981). El sistema de manejo así como las condiciones ambientales influyen significativamente en la propagación de la infección (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La brucela penetra en el organismo del bovino, se multiplica en los ganglios linfáticos satélites y hace bacteriemia luego de dos semanas; la bacteria permanece en sangre durante una semana y luego se localiza en

diversos órganos y ganglios linfáticos. Luego del aborto se produce bacteriemia a las 12 horas y la eliminación de brucelas por útero dura de 3 a 4 semanas (De Diego, 1981). Las hembras abortan por lo general una sola vez, aunque la reinvasión del útero ocurre en las preñeces subsiguientes y las bacterias son diseminadas con las membranas y fluidos. (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). En infecciones naturales no es posible medir el período de incubación (desde la infección al aborto o nacimiento prematuro) porque no se puede determinar el momento de la infección. La experimentación ha demostrado que el período de incubación es sumamente variable y es inversamente proporcional al desarrollo del feto. La "incubación serológica" (desde la infección a la aparición de anticuerpos) es de varias semanas a varios meses. Factores tales como la virulencia de la bacteria, la dosis de la misma, la vía de infección y la susceptibilidad del animal hacen variar el período de incubación (Acha y Szyfres, 1977).

La localización de las brucelas en el útero se ve facilitada por la presencia de eritritol, cuya concentración aumenta considerablemente en el útero grávido (De Diego, 1981).

Los animales no preñados, expuestos a pequeño número de organismos pueden desarrollar infecciones inmunizantes autolimitantes o pueden transformarse en portadores latentes. (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La infección es de por vida aunque hay algunos animales que la eliminan espontáneamente y otros que son naturalmente no receptivos (De Diego, 1981).

La infección persistente de las glándulas mamarias y ganglios linfáticos retromamarios es común, con diseminación constante o intermitente de los microorganismos en leche. En los machos las brucelas se localizan comúnmente en testículos, epidídimos y glándulas sexuales accesorias, pudiendo ocurrir la diseminación por semen (Acha y Szyfres, 1977).

Algunos terneros viables nacidos de madres infectadas tienen infecciones que pueden persistir en los pulmones y ganglios linfáticos regionales. Aquellos que se alimentan de leche infectada, pueden tener infecciones de los ganglios linfáticos que drenan el tracto digestivo y pueden diseminar bacterias por las heces mientras reciban leche infectada (Acha y Szyfres, 1977). La mayoría se recupera de estas infecciones, siendo totalmente susceptibles al alcanzar la madurez sexual. Aproximadamente el 5% de terneras nacidas de madres infectadas permanecen infectadas en forma latente, apareciendo los signos clínicos y la respuesta serológica sólo en el momento del aborto o parto, en su primera gestación. Otros sitios de localización pueden

ser las articulaciones (Acha y Szyfres, 1977; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

1.2.5. Cuadro Clínico-patológico

El síntoma principal es el aborto o la expulsión prematura de los fetos. Por lo general el aborto se produce en la segunda mitad de la preñez, a veces con retención placentaria, y en consecuencia, una metritis que puede ser causa de infertilidad permanente (Acha y Szyfres, 1977). El feto se presenta en uuelto en parte por las membranas fetales, de color amarillento, con exudados y edema, y necrosis de los cotiledones, pero sin signos de necrosis en el cuerpo. A veces el feto puede llegar a término y morir a los pocos días; algunos pocos pueden sobrevivir. Cerca del 50% de los bovinos infectados de primera parición y no vacunados, pueden abortar y más del 80% de ellos se transforman en eliminadores permanentes de brucelas (De Diego, 1981). Sólo de un 10 a 25% de las vacas abortadas vuelve a abortar por segunda vez (Acha y Szyfres, 1977).

Se estima que la infección ocasiona una pérdida del 20 al 25% en la producción de leche, por la interrupción del período de lactación debido al aborto y a la concepción demorada. En la vaca inseminada artificialmente con semen infectado, pueden existir repeticiones de celo. Las hembras no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan con anterioridad al servicio, muchas veces no abortan (Acha y Szyfres, 1977).

En el toro las brucelas pueden localizarse en los testículos y las glándulas genitales anexas. Cuando la enfermedad se manifiesta clínicamente, uno o ambos testículos pueden aumentar de volumen, con disminución de la libido o infertilidad. A veces puede haber atrofia del testículo debido a adherencias y fibrosis. Son frecuentes la vesiculitis y la ampullitis (Acha y Szyfres 1977; Mc Cool y Hooper, 1977; Trichard y col., 1982). Reacciones granulomatosas y necróticas pueden observarse en testículos y epidídimos (Lambert y col. 1963; Yantorno y col., 1979; Trichard y col., 1982).

Se ha considerado que el toro es más resistente a la infección que la hembra; este concepto ha surgido de observaciones que se deben más al manejo de un rodeo, que a la susceptibilidad natural del macho, pues en efecto, los toros se mantienen generalmente separados de las vacas (Acha y Szyfres, 1977).

Ocasionalmente se pueden observar higromas y artritis (Acha y Szyfres, 1977; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

1.2.6. Diagnóstico

El diagnóstico puede ser basado en lo siguiente: 1) Demostración por observación microscópica, 2) aislamiento, 3) pruebas serológicas y 4) pruebas de inmunidad celular.

1) Demostración por observación microscópica.

Este es un procedimiento útil para analizar el material procedente de abortos (Alton y Jones, 1964). Extendidos de placentomas, contenido abomasal fetal o exudado uterino, deben fijarse al calor y teñirse por diferentes métodos, tales como Küster, Macchiavello o Ziehl-Neelsen modificado. (Corbel y col., 1978). También puede emplearse el método de anticuerpos fluorescentes, que incrementa la especificidad, pero tiene la desventaja respecto de las tinciones citadas, que su interpretación es dificultosa (Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986).

2) Aislamiento.

El aislamiento puede ser efectuado a partir de las siguientes muestras: leche, contenido abomasal fetal, semen, fluido de los higromas, descargas vaginales, diversos tejidos, etc. Los medios utilizados pueden ser bifásicos o sólidos. Cuando la muestra está muy contaminada puede centrifugarse y sembrarse en medios con antibióticos. (Robertson y col., 1977) o emplearse el método de aislamiento indirecto, inoculando animales de laboratorio (Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986). Los cobayos se inoculan por vía parenteral u oral y se sacrifican a las 3 y 6 semanas post-inoculación, efectuándose siembras a partir del bazo; también se pueden realizar pruebas serológicas con el suero. Cualquier resultado positivo ya sea por cultivo o serología, garantiza un diagnóstico de brucelosis. Los ratones se inoculan por vía endovenosa o subcutánea, se sacrifican a los 7 días post-inoculación, sembrándose el bazo e hígado en un medio nutritivo (Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986).

3) Pruebas serológicas

Si bien el diagnóstico inequívoco de las infecciones por brucela, puede ser realizado sólo por aislamiento de la bacteria, a veces resulta poco práctico o imposible, de modo tal que deben efectuarse pruebas serológicas. Estas se utilizan sobre todo en los programas de erradicación y pueden clasificarse en: operativas, complementarias, de vigilancia epidemiológica y tamiz (Casas Olascoaga, 1976; Sutherland, 1980; García Carrillo, 1981; Szyfres, 1982; Palladino, 1983; Comité Mixto de Expertos, 1986; Di Lorenzo, 1986). Las pruebas operativas o de rutina son: la aglutinación en placa y la aglu-

tinación en tubo. La primera utiliza como antígeno una suspensión de bruce-
las muertas, coloreadas y concentradas al 10-12%. Posee como ventaja, su ra-
pidez y sencillez lo que permite el manipuleo simultáneo de muchas muestras
(Casas Olascoaga, 1976). Además la hemólisis tiene poca interferencia con la
prueba, el fenómeno de zona es raro y los antígenos están estandarizados. Si
se respetan los pasos de ejecución correctamente, se convierte en una prueba
de uso masivo. Tiene la desventaja de detectar "falsos positivos", debido a
títulos residuales post-vacunales con cepa 19 (Palladino, 1983; Szyfres, 1982).
La prueba de aglutinación en tubo, utiliza como antígeno una concentración
del 0,045% de células de Br. abortus. Es tomada como referencia para las de-
más pruebas de aglutinación. No presenta errores con el manipuleo y es el me-
jor método para detección de animales no infectados. Sus desventajas son: la
lentitud (48 hs), la gran interferencia de la hemólisis en los resultados, los
fenómenos de zona y los "falsos positivos" por títulos residuales a vacunación
con cepa 19 (Centro Panamericano de Zoonosis, 1968; Pietz y Cowart, 1980; Su-
therland, 1980; García Carrillo, 1981; Palladino, 1983; Szyfres, 1982; Di Lo-
renzo, 1986). Una modificación de esta prueba consiste en el agregado de la
sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) a la suspensión an-
tigénica, con el fin de reducir las reacciones no específicas (Macmillan y
Cockrem, 1985; Trap y col., 1985) provocadas por aglutininas alteradas, pre-
sentes en el suero de bovinos adultos no infectados (Garin y col., 1983). Di-
chas aglutininas se han asociado principalmente a moléculas del tipo immuno-
globulina M (IgM), aunque a veces pueden estar involucradas inmunoglobulinas
G de tipo 1 (Ig G1) pero no las G de tipo 2 (Ig G2) ni tampoco las immunoglo-
bulinas A (Ig A) (Nicoletti, 1976). Estas inmunoglobulinas no específicas,
se adosan al antígeno de Brucella por la fracción Fc y no por la fracción
Fab (Trap y col., 1985); las mismas tal vez intervengan en el 70-80% de las
reacciones de aglutinación producidas por sueros de bovinos con reacciones
negativas de fijación de complemento con respecto a Brucella (Comité Mixto
de Expertos FAO-OMS, 1986). Parece ser que el EDTA inhibe la unión del antí-
geno de Br. abortus con la fracción Fc de las inmunoglobulinas alteradas,
mientras que la unión inmunespecífica con la fracción ab de la Ig M no es-
tá afectada (Macmillan y Cockrem, 1985).
Las pruebas complementarias comprenden: la prueba del 2-mercaptoetanol, la
prueba del rivanol, la prueba de fijación de complemento, la prueba de
E.L.I.S.A. y la prueba de hemólisis indirecta. Estas pruebas permiten una

diferenciación entre los títulos de infección y los vacunales.

La prueba del 2-mercaptoetanol está basada en la acción de este compuesto sobre los enlaces disulfuro intercatenarios de la IgM, produciendo su despolimerización, lo cual permite detectar solo IgG. Esta prueba se debe efectuar simultáneamente con la prueba de aglutinación en tubos. La diferencia de títulos entre ambas indica la cantidad de IgM presentes (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982; Szyfres, 1982). Esta prueba detecta portadores crónicos, identifica títulos sospechosos a la seroaglutinación debidos a anticuerpos post-vacunales, así como títulos sospechosos a la seroaglutinación producidos por reacciones inespecíficas (Sutherland, 1980; García Carrillo, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982; Szyfres, 1982).

Las desventajas son: la detección de "falsos negativos" en el inicio de la infección y la reducción parcial del título en infecciones crónicas (Palladino, 1983).

La prueba del rivanol se fundamenta en el poder precipitante de éste sobre las proteínas séricas, con excepción de las IgG (Casas Olascoaga, 1976). La concentración del antígeno es al 4%. Es una prueba de aglutinación en placa en la que el suero es tratado previamente con rivanol (colorante derivado de la acridina). La prueba del rivanol es muy similar en sus ventajas y desventajas a la del 2-mercaptoetanol (Casas Olascoaga, 1976; Sutherland, 1980; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982).

La prueba de fijación de complemento es considerada como la prueba diagnóstica más confiable, debido a su alta especificidad y sensibilidad (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986). Debe mencionarse que esta prueba identifica sólo IgG. El sistema indicador de la prueba se compone de hemáties ovinos, suero anti-hemáties ovinos producido en conejo, y complemento de cobayo. La técnica de fijación puede efectuarse en frío o en caliente. Generalmente en las campañas de erradicación se ha utilizado la fijación en caliente (Palladino, 1983; Szyfres, 1982; Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986).

Actualmente se ha difundido tanto su desarrollo al 100% de hemólisis como su realización con el sistema de microtitulación, con el cual se evita la desventaja del equipo necesario y el personal adiestrado para efectuarla (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986).

Si bien aún hoy existen discrepancias en la interpretación de la mínima dilución que debe ser considerada positiva, en general se aceptan como títulos positivos aquellos \geq a 1/10 (Casas Olascoaga, 1976; Szyfres, 1982).

Esta prueba diferencia los títulos post-vacunales de los infecciosos, así como las reacciones inespecíficas. Además tiene la ventaja de detectar muy bajo número de falsos positivos. Sin embargo, posee algunas desventajas tales como: 1) detección de "falsos negativos" en infecciones recientes; 2) falta de estandarización y 3) no permite diferenciar animales infectados de aquellos recientemente vacunados con cepa 19 o 45/20 (Pietz y Correa, 1980; Palladino, 1983; Szyfres, 1982; Di Lorehzo, 1986).

La prueba de E.L.I.S.A. ha demostrado ser idónea para la detección de muy pequeñas cantidades de anticuerpos, razón por la cual se considera que será utilizada en el futuro en forma rutinaria. Australia y Canadá han adoptado esta prueba en sus programas de brucelosis. Antígenos preparados con células enteras y LPS purificados, y una variedad de conjugados y sustratos antiglobulínicos han sido utilizados (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). Esta prueba consiste en hacer reaccionar el antígeno con el suero sobre una fase sólida. Posteriormente se efectúa un lavado tendiente a remover el exceso de proteína y se adiciona anti-inmunoglobulina específica de la especie animal combinada con la enzima. La cantidad de enzima que permanece en la fase sólida da la medida del nivel de anticuerpos séricos (Sutherland, 1980; Palladino, 1983; Szyfres, 1982). El inconveniente que presenta es la falta de estandarización de los antígenos y además la detección de anticuerpos es más tardía en infecciones recientes, si se la compara con la prueba de la tarjeta (Sutherland, 1980; Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

Se ha postulado que esta prueba podría ser utilizada como prueba de vigilancia, de modo tal de contar con una alternativa que provea mayor sensibilidad y especificidad que detectar anticuerpos a brucela en rodeos lecheros. Sin embargo, se requiere mayor investigación al respecto (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La prueba de hemólisis indirecta es una técnica sensible y específica que reacciona levemente con los anticuerpos resultantes de la inmunización con cepa 19, obteniéndose resultados negativos a los 2 meses post-vacunación con dicha cepa (Szyfres, 1982; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La prueba consiste en sensibilizar glóbulos rojos de bovinos con el antígeno lipopolisacárido extraído de un cultivo de cepa 19. Esta dupla se pone en contacto con el suero problema y el complemento obtenido de cobayos. Los glóbulos rojos se lisarán en presencia de complemento si el suero contiene anticuerpos anti-brucela de tipo IgG o IgM (Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

Con el empleo de esta prueba se evita el fenómeno de prozona que ocurre con la fijación de complemento. Además el nivel de anticuerpos puede ser detectado por un tiempo más prolongado, al compararse con la prueba de Wright. (Palladino, 1983).

Las desventajas son que aún no se ha estandarizado, y la falta de evaluación de la prueba a gran escala (Sutherland, 1980; Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

La prueba de la antiglobulina de Coombs, permite detectar la presencia de anticuerpos incompletos (Casas Olascoaga, 1976; Sutherland, 1980; Szyfres, 1982). Esta prueba se efectúa en 2 etapas. En una primera etapa los anticuerpos séricos se unen al antígeno bacteriano, pero no se produce la aglutinación. Luego se realiza un lavado para eliminar los anticuerpos no combinados con el antígeno. En la segunda etapa los anticuerpos específicos unidos a las células se comportan como un antígeno en la reacción con el suero antiglobulina especie específica, de modo tal que se evidencia la aglutinación (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982; Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

Es una prueba sensible, que detecta portadores y que puede emplearse cuando existen reacciones dudosas a la fijación de complemento. Tiene como desventajas la dificultad de ejecución y la falta de estandarización. (Casas Olascoaga, 1976; Sutherland, 1980; Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

Las pruebas de vigilancia epidemiológica que pueden efectuarse son: la prueba del anillo en leche (para rodeos lecheros) y la aglutinación en placa y tarjeta (para rodeos de carne). La prueba del anillo en leche es el método más práctico y económico para identificar rodeos infectados y para vigilar los rodeos libres (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

En esta prueba se utiliza un antígeno coloreado con hematoxilina y con una concentración celular del 4% (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982).

La reacción positiva se clasifica de 1 a 4 cruces, según el grado de intensidad de color del anillo superior de grasa y la decoloración del resto de la columna de leche (Centro Panamericano de Zoonosis, 1982).

Los anticuerpos se adhieren al antígeno coloreado que se adosa a la membrana exterior de los glóbulos grasos y con éstos asciende, formando un anillo de color en la superficie de la columna de leche (Palladino, 1983; Szyfres, 1982).

Los rodeos con una prueba del anillo positiva pueden ser luego examinados en forma individual, oier por pruebas serológicas en suero o leche (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

Para considerar tambos libres debe efectuarse 3 o 4 veces por año.

Es una prueba sensible, con una probabilidad de detección del 82% de un positivo, en un total de 25 vacas. Si el número de positivos se eleva a 2 o 3, dicho porcentaje puede oscilar entre un 86% y un 99% (Szyfres, 1982).

Se puede utilizar como prueba individual, para detección de portadores crónicos (Palladino, 1983).

Las desventajas que posee son: puede detectar falsos positivos (por mastitis, vacunados con cepa 19, animales gestantes después del 6^o mes, etc.); no se deben utilizar leches pasteurizadas o acidificadas; se ve influenciada por el tenor graso de la leche y no detecta animales que no eliminan anticuerpos por leche (Casas Olascoaga, 1976; Sutherland, 1980; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982; Palladino, 1983; Szyfres, 1982; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La prueba del antígeno acidificado o tarjeta es una prueba rápida y confiable que debe asociarse a otras para confirmar el diagnóstico. Es rápida y de fácil ejecución (Sutherland, 1980; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986).

En ella se utiliza un antígeno con una concentración del 8% de células que esté teñido con Rosa de Bengala y tiene un pH acidificado a 3,65 con una solución amortiguada (por hidróxido de sodio y ácido láctico) (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982; Szyfres, 1982).

La prueba es cualitativa, de modo tal que identifica positivos o negativos (Centro Panamericano de Zoonosis, 1982). Puede utilizarse también como prueba tamiz o complementaria (Palladino, 1983), es muy sensible y detecta niveles de anticuerpos precozmente (Casas Olascoaga, 1976; Szyfres, 1982; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

Tiene la desventaja de detectar gran proporción de "falsos positivos" en áreas de baja prevalencia y de vacunación obligatoria. Además, por ser cualitativa no determina el grado de infección (Palladino, 1983).

Más recientemente en Estados Unidos y Canadá se está utilizando la prueba de aglutinación en placa con antígeno tamponado, donde el antígeno se tiñe con verde brillante o violeta de genciana. Esta prueba puede cumplir el mismo rol que la de tarjeta (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986). En un estudio realizado por Stemsorn y col. (1985), esta última mostró mayor sensibilidad relativa con respecto a las otras pruebas de aglutinación; así dicha sensibilidad decreció en el siguiente orden: prue

de aglutinación en placa con antígeno tamponado, prueba del Rosa de Bengala en placa, prueba de la tarjeta, aglutinación en placa y aglutinación en tubo. El 2-mercaptoetanol evidenció una sensibilidad intermedia entre la segunda y la tercera, según el análisis utilizado.

Como pruebas tamiz se pueden utilizar las pruebas de aglutinación en placa y tubo y la de tarjeta. Por medio de ellas se efectúa la detección primaria de los animales sospechosos y positivos, para luego corroborar si esos títulos son de infección o post-vacunales (Palladino, 1983).

4) Inmunidad celular

Las brucelas son bacterias patógenas intracelulares facultativas. Ellas son fagocitadas por los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares, y particularmente las cepas virulentas son capaces de sobrevivir dentro de estas células. No todos estos microorganismos presentes en el huésped se encuentran dentro de dichas células y los anticuerpos estimulan la fagocitosis. No obstante, como las bacterias virulentas pueden sobrevivir durante períodos prolongados dentro de macrófagos normales, es probable que la recuperación de la infección dependa de que estas células fagocitarias desarrollen una mayor actividad bactericida (Comité Mixto de Expertos: FAO-OMS, 1986).

La activación de los macrófagos se produce cuando los linfocitos T son estimulados para segregar factores reconocidos como anticuerpos, denominados linfoquinas (Palladino, 1983). La liberación de estos factores activadores depende del reconocimiento del antígeno apropiado por el linfocito T y está regulada por el complejo principal de histocompatibilidad (Comité Mixto de Expertos: FAO-OMS, 1986). Los microorganismos vivos capaces de establecer infección intracelular persistente, y ciertos tipos de antígenos con o sin adyuvante, son los inductores más eficaces de la inmunidad mediada por células. Este tipo de inmunidad se relaciona con la reacción de hipersensibilidad retardada que a menudo se puede provocar en animales infectados mediante la inyección intracutánea del antígeno (Sutherland, 1980; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986). La hipersensibilidad retardada y el aumento de la actividad bactericida de los macrófagos, por lo general se presentan paralelamente durante la infección, pero la primera también puede producirse sin que exista una inmunidad protectora efectiva. En consecuencia, algunas vacunas contra el género Brucella con coadyuvante, son inductores eficaces de hipersensibilidad retardada a antígenos brucélicos, pero esa reacción no siempre va acompañada del desarrollo de inmunidad protectora (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

El rol de las células citotóxicas en la respuesta inmune mediada por células en presencia de brucelas, aún no ha sido elucidado (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). La inmunidad celular en brucelosis ha sido desa-

rollada mediante pruebas " in vivo " e " in vitro " . Las pruebas alérgicas intradérmicas se incluyen dentro de las primeras y entre las segundas pueden citarse, la prueba de transformación linfoblástica y la de inhibición de la migración macrofágica, las cuales aún no han sido estandarizadas (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986).

1.2.7. Profilaxis

Las brucelas sobreviven dentro de las células fagocíticas del sistema retículoendotelial y de esta forma están protegidas de los anticuerpos, complemento y antibióticos (Nicoletti, y col. 1985). Así los resultados obtenidos con el empleo de estos últimos no han sido del todo eficaces para poder utilizarlos en gran escala (Di Lorenzo, 1986).

La vacuna de elección es la Br. abortus cepa 19, consagrada por su uso universal, la protección que confiere durante toda la vida útil del animal, y su bajo costo. Para obviar su interferencia con el diagnóstico se recomienda limitar la vacunación a animales de poca edad (terneras de 3 a 6 meses), los que pierden rápidamente los anticuerpos originados por la vacuna (Acha y Szyfres, 1977). Se estima que un 70% de los animales quedan protegidos contra el aborto (André Fontaine, 1980). De esta manera se reduce una de las principales fuentes de infección (Acha y Szyfres, 1977). La dosis usual utilizada ha sido no menor a 5×10^{10} células viables, aplicada por vía subcutánea. Últimamente en Estados Unidos las dosis utilizadas oscilan entre 3×10^8 y 3×10^9 microorganismos viables, y se ha establecido un rango de edad que varía entre los 4 y 12 meses (Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986).

La inmunización de los becerros con cepa 19 no se efectúa ya que en ellos la persistencia de aglutininas séricas es más prolongada y además porque se ha demostrado el efecto nocivo de esta cepa sobre el tracto reproductor (Yarntorno y col., 1979; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

También se ha practicado la inmunización de animales adultos, lo que puede ocasionar abortos cuando se inmunizan vaquillonas preñadas. Estos adultos vacunados deben ser identificados en forma permanente (Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), 1982; Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La vacuna Rev 1 que se desarrolló originalmente para ovinos y vacunos, puede ser utilizada en bovinos con buenos resultados. Esta es una vacuna viva de baja virulencia. La misma constituye una variante estreptomocina independiente, de una mutante estreptomocina dependiente de Brucella melitensis. Se la ha considerado segura para terneras o animales maduros (Di Lorenzo, 1986).

La vacuna con cepa H 38 (a Brucella melitensis) otorga buena inmunidad, pero produce una acentuada respuesta local e induce reacciones serológicas por tiempo prolongado. (Comité Mixto de Expertos, FAO-OMS, 1986). Es una vacuna con gérmenes muertos, que tiene un adyuvante oleoso (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986; Di Lorenzo, 1986).

La vacuna con cepa 45/20 (rugosa) de Brucella abortus es también una vacuna preparada con microorganismos muertos y suspendida en adyuvante oleoso. Los resultados obtenidos con esta vacuna difieren entre los autores, debido a que no existe acuerdo en el método de control de calidad de la misma. (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986). Algunos autores le adjudican una inmunidad similar a la otorgada por la cepa 19 (André Fontaine, 1980). Esta vacuna puede ser utilizada en animales de cualquier edad, preñados o no.

Tiene como ventaja su bajo poder aglutinógeno. En Irlanda se ha adoptado para la ejecución de planes de erradicación (Comité Mixto de Expertos FAO-OMS, 1986).

La vacuna PB 19 está inactivada por calor y formol y suspendida en suero bovino hiperinmune antibrucela. La misma ha sido elaborada a partir de la cepa 19. Tiene escasa interferencia con el diagnóstico y una eficiente protección contra el aborto, pero hasta el presente no ha sido muy difundida (Di Lorenzo, 1986).

1.3- MICOPLASMOSIS

1.3.1. Definición

Las micoplasmosis constituyen un grupo de afecciones de origen infeccioso, producidas por microorganismos pertenecientes al género *Mycoplasma* de distribución mundial, que se caracterizan por presentarse en las distintas especies animales y en el hombre, con diferentes cuadros clínico - patológicos. Así, se han descrito entre otros, casos de artritis, sinovitis, neumonías, mastitis, agalaxia, infertilidad, uretritis, afecciones genitales, abortos y trastornos encefálicos de donde se han aislado estos organismos (Afshar, 1967; Hoare, 1969; Merchant y Packer, 1970; Gourlay, 1973; Langford y Leach, 1973; Langford, 1974; Perfumo, 1976; Ball y col., 1978; Boughton, 1979; Carter, 1979; Rosendal y col., 1979; Rosenfeld y Hill, 1980; Truscott, 1981; Panangala y col., 1982; Trichard y Jacobsz, 1985).

1.3.2. Incidencia y caracterización de la micoplasmosis genital bovina

En el bovino se han registrado casos de mastitis, neumonías, artritis y queratoconjuntivitis, debidos a mycoplasmas (Gourlay, 1973; Truscott, 1981). Ultimamente *Mycoplasma bovigenitalium*, (*M. bovigenitalium*), *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) y *Acholeplasma laidlawi* (*A. laidlawi*) han sido implicados en diversas afecciones del área reproductiva, aunque el conocimiento de la relación causa - efecto no ha sido totalmente esclarecido. A través de investigaciones efectuadas por autores en distintos países, se ha obtenido información sobre aislamiento de estos microorganismos a partir del tracto genital de hembras y machos bovinos, en infección natural y/o experimental. Así, Langford (1975) en Canadá, aisló *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma arginini* y *Acholeplasma laidlawi* en el 5% de 80 hembras infértiles. Afshar y col. (1966) en Irán, reprodujeron experimentalmente la vulvovaginitis granular bovina. Rama Rao y col. (1975) en India, detectaron un 18,6% de hembras positivas a *M. bovigenitalium* por la técnica de inmunofluorescencia. Hoare y Haig (1964) en Inglaterra aislaron mycoplasmas del oviducto de 20 sobre 33 vacas con problemas de fertilidad. Utilizando cepas aisladas de casos de mastitis se logró experimentalmente la reproducción de endometri-

tis , endosalpingitis y salpingitis en hembras bovinas (Hartmann y col. , 1964) . Sin embargo , M. bovigenitalium también ha sido recuperado de mucus cervical en animales sanos (Cotew , 1970) . En Irlanda , Australia , Estados Unidos y Sud - Africa se ha logrado aislar mycoplasmas a partir de fetos abortados natural o experimentalmente , así como también de fetos controles (O' Berry y col. , 1966 ; Stalheim y Proctor , 1976 ; Ball y col. , 1978 ; Rosenfeld y Hill , 1980 ; Trichard y Jacobsz , 1985) . La información disponible sobre este tópico , no permite aún asignarles a estos organismos el rol de productores de abortos . Los géneros Acholeplasma y Ureaplasma han sido asimismo involucrados en infertilidad y abortos bovinos (Ball y col. , 1978) .

La localización de mycoplasmas en pene y prepucio de toros sanos, varía según los distintos autores , con porcentajes de prevalencia que oscilan entre un 13,9 % y un 92 % (Taylor - Robinson y col. , 1969 ; Jasper y col. , 1974 ; Naglic , 1977 ; Fish y col. , 1985) .

El semen también puede infectarse con mycoplasmas . Los porcentajes de infección en toros de inseminación artificial son diferentes para cada autor. Así Blom y Ernø en Dinamarca (1970) , detectaron un porcentaje de infección que varía entre 30 % y 64 % . Este porcentaje osciló entre 16,7 % y 46 % en toros de Yugoslavia (Naglic , 1977) . Para Fish y col. (1985) en Canadá , la incidencia fue de 75,5 % y porcentajes de hasta el 100 % han sido encontrados en Checoslovaquia por Jurmanova y col. (1977) . Los estudios realizados hasta el momento por grupos de trabajo de las Universidades de Aarhus (Dinamarca) y Cornell (Estados Unidos) han demostrado que si bien los mycoplasmas se han aislado del tracto reproductor de toros sin signos clínicos de enfermedad , también fueron recuperados de casos aislados de vesiculitis naturales (Al-Aubaidi y col. , 1972 ; Ernø y Blom , 1972) y de casos de vesiculitis, ampullitis, epididimitis y orquitis producidos experimentalmente (Ernø y Blom , 1972 ; Afshar , 1975 ; Panangala y col. , 1981 ; La Faunce y Mc Entee , 1982 ; Panangala y col. , 1982) . Fish y col. (1985) aislaron M. bovigenitalium en el 11,1 % de las vesículas seminales de 45 toros analizados que presentaron a la histología, infiltración macrofágica y plasmocítica en el intersticio glandular . Mycoplasma bovigenitalium fue aislado de las secreciones de las vesículas seminales en el 64,2 % de 14 toros que tenían disminución de la motilidad espermática al post-descongelado (Panangala y col. , 1982) . Existen dis-

crepancias entre distintos autores con respecto a la existencia o no de signos clínicos (detectados por tacto) en los casos de vesiculitis seminal (Al, Aubaidei y col., 1972; Ernp, 1974; Parsonson y col., 1974; Hall y Mc Entee, 1981). Los estudios microscópicos de lesiones inflamatorias producidas por M. bovigenitalium y M. bovis revelaron acúmulos de linfocitos, eosinófilos, macrófagos y células plasmáticas, tanto en vesículas seminales como en epidídimos infectados (Afshar, 1975; Panangala y col., 1982).

Mycoplasma bovigenitalium puede persistir en semen de toros infectados durante períodos superiores a los doce meses (Panangala y col., 1982). No siempre se ha podido correlacionar el grado de fertilidad con los hallazgos microbiológicos. Así, Albertsen (1955) no encontró correlación entre los aislamientos y la fertilidad de toros examinados en dos centros de inseminación, mientras que Naglic (1977) logró aislar M. bovigenitalium, A. laidlawii y M. arginini de toros de inseminación con distintos grados de fertilidad. Luego Hall y Mc Entee (1981) informaron sobre la asociación entre la presencia de M. bovigenitalium en las secreciones de las vesículas seminales de toros jóvenes, clínicamente sanos y la disminución de la motilidad espermática post - descongelado. Esta pérdida de la motilidad, se originaría por la adherencia de los mycoplasmas al acrosoma y pieza intermedia, siendo probablemente los epidídimos y vesículas seminales el sitio donde se produce el fenómeno. Hasta el momento se desconoce el mecanismo íntimo de dicha adsorción (Parsonson y col., 1971; Parsonson, 1974; Panangala y col., 1981; Panangala y col., 1982). En semen infectado se ha observado además, presencia de células inflamatorias y un aumento del 10 al 30% en el porcentaje de espermatozoides muertos (Parsonson y col., 1974).

Así como en la hembra, en el macho se obtuvieron aislamientos del género Ureaplasma y Acholeplasma, tanto de distintos sectores del aparato reproductor como de material seminal (Taylor - Robinson y col., 1969; Langford, 1975; Onoviran y col., 1975; Jurmanova y col., 1977; Hodges y Holland, 1980). En nuestro país, los aislamientos de estos microorganismos en rumiantes, han sido obtenidos de casos de neumonías. Así, Almeida (1982) diagnosticó brotes de neumonía en terneros de tambo, en los cuales el 7% de los aislamientos realizados corresponde a M. dispar y el 3% a Ureaplasma sp.. Arrigo y col. (1984) aislaron M. ovipneumoniae y M.

arginini en el 24% y 4,7% de los corderos con lesiones patológicas. Sin embargo, hasta el presente no se han registrado en Argentina aislamientos de Mycoplasmatales en la esfera genital.

1.3.3. Etiología

Nocard y col. fueron los primeros que lograron el cultivo del agente causal de la pleuroneumonía bovina en medios artificiales, en 1898 (Merchant y Packer, 1970). A partir de allí, se ha enfatizado su estudio a través de los años. Los mycoplasmas, agentes integrantes de la clase Mollicutes (Buchanan y col., 1974; Freundt y col., 1979) carecen de pared celular y son incapaces de sintetizar ácidos tales como murámico y diaminopimélico, componentes básicos de esta pared. Estos agentes tienen un tamaño inferior a 450 nm , y no se tiñen con el colorante de Gram. Con el colorante de Giemsa presentan un aspecto de pequeños cocos pleomórficos o de bacilos de escasa longitud y en algunos casos, adoptan el aspecto de anillos huecos. Desarrollan en medios artificiales, forman pequeñas colonias con apariencia de " huevo frito ", y no revierten como las formas L bacterianas. Aunque la forma de división aún no se ha aclarado, las observaciones microscópicas sugieren que las nuevas partículas elementales se producen por fragmentación de células filamentosas que contienen diversos componentes del DNA (Davis y col., 1978).

La clase Mollicutes, comprende dos familias: Mycoplasmataceae y Acholeplasmataceae, que tienen importancia en Medicina Veterinaria. Para su clasificación se han tenido en cuenta caracteres culturales, bioquímicos y antigénicos (Al-Aubaidi y Fabricant, 1968; Freundt y col., 1979).

El cuadro N° 1 (pág. 28) muestra las diferencias que existen entre las dos familias citadas anteriormente.

1.3.4. Patogenia

Actualmente la patogenia de las micoplasmosis es poco clara. Se han postulado varias hipótesis al respecto. Hay autores que sostienen que los mycoplasmas colonizan distintos órganos a través de la vía sanguínea, y esto está avalado por el hecho de haber aislado M. bovigenitalium de hígado,

bazo, riñón y área genital (Al-Aubaidi y col., 1972; La-Faunce y Mc Entee, 1982). La infección a través de la vía respiratoria es posible y así lo demuestran Panangala y col. (1982) quienes lograron aislar M. bovigenitalium de vesículas seminales de un toro inoculado por vía intratraqueal. El semen puede ser un importante vehículo de transmisión, porque frecuentemente se contamina con mycoplasmas (Rae, 1982; Jurmanova y col., 1983), considerándose de esta forma la factibilidad de la transmisión venérea (Afshar, 1967; Jasper y col., 1974). El hecho de aislar Mycoplasmatales en vesículas seminales de animales jóvenes, ha originado una teoría que postula la vía ascendente para explicar la patogenia. Según esta teoría, los mycoplasmas que habitan en prepucio y pene, alcanzan las vesículas seminales durante la pubertad y ello obedecería al efecto de las hormonas que aparecen en esta etapa (Jansen, 1980; Hall y Mc Entee, 1981).

1.3.5. Diagnóstico

El diagnóstico clínico es prácticamente imposible de realizar, debido a la falta de signos patognomónicos. Para efectuar el diagnóstico microbiológico se pueden enviar distintos tipos de muestras del aparato genital (mucus vaginal y prepucial , contenido uterino, órganos, semen), o aquellas procedentes de fetos abortados. Estas se siembran en medios de cultivo, cuyos requerimientos dependen de la especie de mycoplasma buscada. Sin embargo, los componentes básicos para el aislamiento de cualquiera de ellas son los siguientes: suero en elevada concentración, ácido desoxirribonucleico, extracto de levadura e inhibidores bacterianos (acetato de talio y penicilina).

La atmósfera empleada para aislar mycoplasmas bovinos debe contener un 5 - 10% de CO₂ (Ernø, 1974; Freundt y col., 1979). Si se logra el aislamiento, se puede observar la morfología de las colonias con lupa estereoscópica. La coloración de Dienes es la habitualmente utilizada (Carter, 1979).

Se debe excluir la posibilidad de una fase L y evaluar el requerimiento de esteroides. Las principales pruebas bioquímicas que se realizan para tipificar cepas son: hidrólisis de urea, arginina, glucosa y glicósidos; actividad fosfatasa; formación de " películas y puntos " (films and spots);

evaluación del poder proteolítico; reducción del cloruro de tetrazolium y hemólisis. Para clasificar mycoplasmas también se recurre a pruebas serológicas, tales como hemadsorción, hemaglutinación, inhibición de la hemaglutinación, inhibición del metabolismo, aglutinación, fijación de complemento, doble inmunodifusión en gel de agar y prueba de Elisa (Ernp, 1974; Freundt y col., 1979; Panangala y col., 1982).

1.3.6. Profilaxis y tratamiento

No se ha informado sobre la producción de inmunógenos contra la mycoplasmosis genital. Teniendo en cuenta que esta infección puede ser transmitida por el coito y otras vías, se recomienda que tan pronto como se efectúe un diagnóstico de mycoplasmosis en un rodeo, los animales afectados deben apartarse, y el servicio natural tendría que ser reemplazado por inseminación artificial (Afshar, 1967).

Las drogas que se utilicen en el tratamiento de animales afectados o de semen contaminado, deben ser aquellas que actúen inhibiendo la síntesis proteica, ya que los mycoplasmas carecen de pared celular. Antibióticos tales como tilosina, tetraciclina, clortetraciclina, eritromicina y espiromicina han sido recomendados por Afshar (1967) para eliminar Mycoplasma spp. de semen. Hamdy y Miller (1971) obtuvieron buenos resultados al tratar semen contaminado con M. bovigenitalium, M. bovis y A. laidlawi, utilizando la combinación lincomicina-espectinomicina a razón de 300 y 600 mcg/ml respectivamente; otras asociaciones antibióticas que incluyen además de ambas drogas a la minociclina, han sido asimismo eficaces para eliminar mycoplasmas de semen (Truscott, 1981).

1.4. LEPTOSPIROSIS

1.4.1. Definición

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa producida por 25 serogrupos (los cuales incluyen más de 180 serovares) de Leptospira interrogans (L. interrogans) que afecta a los animales domésticos y silvestres y también al hombre (De Diego, 1974; Saraví y col., 1987).

1.4.2. Incidencia

En Estados Unidos los serovares de L. interrogans encontrados han sido: pomona, canicola, hardjo, icterohaemorrhagiae y grippotyphosa (Amatredjo y Campbell, 1975). En dicho país el serovar pomona y últimamente el serovar hardjo son considerados los de mayor incidencia (Cacchione, 1981). Así, Songer y col. (1983) efectuaron un relevamiento en bovinos de Arizona, para evaluar presencia de aglutininas leptospirales. Sobre 1215 sueros analizados, el 25,4% resultó positivo a uno o más de los 5 serovares antedichos usados como antígenos, a un título \geq a 1/100. Para títulos \geq a 1/400, se encontró un 8,2% de sueros positivos. El serovar hardjo fue el más comúnmente encontrado, ocupando el segundo lugar el serovar pomona. Los autores enfatizan el peligro potencial del serovar hardjo, no sólo como productor de abortos, sino también como cause de infección en salud pública. El serovar grippotyphosa juega un papel de mayor importancia que el serovar pomona en países tales como Inglaterra, Rusia, Hungría, Israel y Africa, (Cacchione, 1981). En Escocia, Ellis y Michna (1976 a), analizaron 3600 sueros bovinos, con un resultado del 49,1% de muestras positivas a distintos serovares de Leptospira interrogans. En el 41,8% de dichas muestras se detectaron anticuerpos para el serovar sejroe, seguidos por un 7,7% y un 7,3% para icterohaemorrhagiae y ballum respectivamente. Estos autores informaron que sólo los serogrupos Hebdomadis e Icterohaemorrhagiae han sido asociados a cuadros clínicos de abortos, mastitis e infección de terneros en el Reino Unido.

Para Higgins y col. (1980) la prevalencia del serovar hardjo en rodeos infectados de Inglaterra, es de aproximadamente un 30%.

Según Sullivan (1974), los serovares más comunes en Australia son pomona, tarassovi y hardjo. Hathaway (1981) ha notificado que en Nueva Zelanda, los títulos al serovar hardjo están presentes en más del 80% de los rodeos.

En Brasil, Wiest (1970) informó sobre la existencia de reactores positivos para los serovares pomona, canicola e icterohaemorrhagiae en bovinos. Posteriormente, Williams y col. (1975) observaron títulos elevados al serovar sejroe, y también reacciones a los serovares wolffi y hardjo en casos de abortos por leptospiras. Luego, de Oliveira (1976) registró predominio del serogrupo Hebdomadis (incluyendo los serovares hardjo y wolffi) para bovinos de Río Grande do Sul. En toros de inseminación artificial de Brasil, se detectaron aglutininas antileptospiras en el 53,5% de 71 toros analizados, con predominio de los serovares sejroe y wolffi (Knacfuss Vaz y de Oliveira, 1978). Datos obtenidos de un estudio epidemiológico efectuado por Blackmore y col. (1976) en un centro de inseminación artificial de Nueva Zelanda, muestran altos porcentajes de toros reactores positivos al serovar hardjo. Dichos porcentajes oscilaron entre 45 y 100%, para los distintos muestreos realizados durante un período de 3 años. En el caso del serovar pomona, los porcentajes fueron bajos en relación a hardjo (con variaciones entre 0 y 15%) para el primer año, aumentando sustancialmente hasta 93% al final del ensayo. En un relevamiento realizado por Ladds y col. (1973) en toros de matadero, se han registrado porcentajes de 39,2% y 14,8% para los serovares hardjo y pomona respectivamente. En nuestro país Myers y Jelambi (1975) analizaron 1867 sueros bovinos procedentes de cinco provincias argentinas encontrando un 59,1% de reactores positivos. El 45,8% de las muestras presentó títulos al serovar hardjo, mientras que para pomona el porcentaje fue de 7,8%. Posteriormente, Cacchione y col. (1980) comunicaron los resultados serológicos obtenidos sobre leptospirosis durante 20 años, en Argentina. Para bovinos, la incidencia fue del 63,2%, siendo los serovares wolffi y pomona los predominantes, seguidos por tarassovi.

Cabe destacar que de acuerdo con la bibliografía consultada, los serovares aislados de bovinos en Argentina son los siguientes: argentiniensis, canicola, galtoni, hardjo, paidjan y pomona (Myers y Jelambi, 1975; Sulzer, 1975; Cacchione y col.; 1980).

1.4.3. Etiología

Leptospira interrogans comprende actualmente 25 serogrupos y más de 180 serovares, agrupados de acuerdo a su estructura antigénica (Saraví y col., 1987).

Los diversos tipos de leptospiras son indistinguibles morfológicamente. Estos microorganismos tiene aspecto de filamentos delgados, helicoidales, con extremos incurvados y un tamaño aproximado de $0,1\mu$ de diámetro, por $6-20\mu$ de largo. Son móviles, poseen un endoflagelo (Mazzonelli, 1986), no se tiñen bien con los colorantes de anilina, pero se colorean con Giemsa, rojo Congo o tinción argéntica (Merchant y Packer, 1970; Cacchione, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985). Pueden observarse con microscopio de fondo oscuro o bien por contraste de fase. Las leptospiras crecen bajo condiciones de temperatura que oscilan entre 28°C y 30°C . Son aerobias y necesitan para su desarrollo medios especiales. Estos medios constan básicamente de una solución tamponada, con o sin algún tipo de peptona, y con o sin agar (0,1 a 0,2%), a los que se agrega suero, generalmente de conejo, en concentraciones que varían entre 5 y 10%. La adición de hemoglobina y vitamina B₁₂ favorece el crecimiento, mientras que el agregado de antibióticos inhibe la contaminación.

1.4.4. Epidemiología

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita, en la que los animales, ya sean domésticos o silvestres, juegan un papel fundamental actuando como reservorios o portadores de la infección. La orina de estos animales infectados constituye una fuente de contaminación permanente. La supervivencia de leptospiras en ríos, lagos, arroyos o terrenos húmedos, se ve

altamente influenciada por factores tales como el pH, temperatura y contenido de minerales y sales (Cacchione, 1981). El grado de susceptibilidad a la infección por estos agentes depende de la especie, edad, medio ambiente, estado fisiológico, resistencia natural y sobre todo del serovar actuante. En los bovinos las categorías más afectadas son los terneros y hembras gestantes o en lactación. La infección con leptospiras se produce generalmente por contacto indirecto con el agua, suelo o alimentos contaminados con la orina de los animales portadores. También puede efectuarse por medio de ectoparásitos (Amatredjo y Campbell, 1975). El contacto directo puede realizarse por vía venérea, transplacentaria, mamaria, cutánea, conjuntival o bien por inhalación o ingestión (Amatredjo y Campbell, 1975; Cacchione, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1986).

1.4.5. Patogenia

La patogenia de la leptospirosis ha sido explicada como sigue: las leptospiras, penetran por cualquiera de las vías antedichas y efectúan un breve recorrido por el sistema linfático, con ligera hipertrofia de los ganglios linfáticos correspondientes al área de penetración de las mismas. Esta etapa se continúa con proliferación de las leptopiras en sangre y es en este momento donde se produce la verdadera infección. El período de incubación varía entre 5 y 14 días. En la fase de leptospiremia, se produce un período de invasión de los microorganismos a los distintos órganos, y luego un período toxémico con localización en órganos y lesión en los parénquimas. Posteriormente se inicia la respuesta inmune, con aparición de anticuerpos y eliminación de las leptospiras del torrente circulatorio, así como de los distintos órganos. El último paso es la localización renal y desde ahí son excretadas por la orina en forma intermitente (Cacchione, 1981).

En cuanto a la patogenia del aborto por leptospiras, se han postulado algunas hipótesis que explican su mecanismo mediante: 1) pirexia de la madre; 2) producción de toxinas o hemolisinas; 3) cambios degenerativos en la placenta y 4) leptospirosis fetal (Amatredjo y Campbell, 1975).

1.4.6. Cuadros clínico-patológicos

La enfermedad en el ternero puede presentarse en forma aguda con aumento de temperatura, hemoglobinuria, ictericia, anorexia, uremia en el estado final y muerte después de un curso corto (Amatredjo y Campbell, 1975).

En las vacas gestantes a menudo se producen abortos múltiples y simultáneos. Manifestaciones neurológicas también suelen suceder (Michna, 1970).

Los serovares pomona y grippotyphosa han sido asociados con la forma aguda de la enfermedad. La forma subaguda es de aparición lenta; afecta principalmente a animales en lactación. Para el serovar hardjo se ha registrado una disminución de alrededor del 30% en producción lechera, con ubres flácidas, y secreción láctea similar al calostro. La incidencia de mastitis puede llegar hasta un 50% (Galton y col., 1956; Michna, 1970; Sullivan, 1974; Amatredjo y Campbell, 1975; Ellis y Michna, 1976 a; Ellis y col., 1976; Higgins y col., 1980). Los serovares pomona y grippotyphosa también han sido implicados en casos de mastitis (Burdin y col., 1958; Amatredjo y Campbell, 1975).

Las lesiones producidas en riñón son clasificadas como de tipo intersticial (Michna, 1970; Sullivan, 1974; Amatredjo y Campbell, 1975).

La forma crónica ha sido asociada con abortos, terneros débiles, muerte fetal y retención placentaria (Michna, 1970; Sullivan, 1974; Amatredjo y Campbell, 1975). El aborto debido a leptospiras ocurre cuando existen animales susceptibles (seronegativos) o cuando los mismos se han expuesto recientemente a la infección. Una vez que todos los animales del rodeo han sido expuestos, cesan los abortos.

El serovar hardjo produce no más de un 20% de abortos durante la segunda mitad de la gestación. Para el serovar pomona este porcentaje puede alcanzar un 40%, provocando retención placentaria (Dacres y Kiesel, 1958; Knott y Dadswell, 1970; Ellis y Michna, 1976 b). En los brotes de mastitis por serovar hardjo, se observan abortos en el 5-10% de las vacas afectadas (Sullivan, 1974).

En el toro, las leptospiras pueden causar orquitis, vesiculitis y epididimitis (Cacchione, 1981). Sleight y col. (1964) observaron orquitis en toros infectados experimentalmente con el serovar pomona.

Recientemente, Ellis y col. (1986 a) han registrado casos de infección natural en toros con aislamiento del serovar hardjo pero aún no se han descrito lesiones producidas en el aparato genital. No obstante ello, el peligro que representa la permanencia de un toro infectado en un rodeo o centro de inseminación, radica en que el mismo puede difundir la enfermedad a través de su semen (Sleight y Williams, 1961; Stalheim y col., 1979).

1.4.7. Diagnóstico

El diagnóstico clínico de la enfermedad es dificultoso, sobre todo cuando la misma cursa en forma inaparente. Por ello se recurre al diagnóstico de laboratorio. El mismo comprende: 1) el examen directo; 2) las tinciones; 3) el cultivo; 4) la inoculación en animales de laboratorio y 5) el análisis serológico. Los resultados obtenidos por estos métodos dependen del curso de la enfermedad (Aguirre, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985).

1) Examen directo:

Las muestras destinadas al examen directo pueden ser: sangre, orina y otros fluidos. Solamente un 8-10% de animales infectados son detectados por este método (Aguirre, 1981). Resultados positivos pueden obtenerse después de la primera semana de infección en animales con leptospiruria. Normalmente se necesita realizar varios muestreos porque la emisión de leptospiras por orina es intermitente.

2) Tinciones:

Las coloraciones citadas a continuación, son utilizadas para demostrar la presencia de leptospiras en sangre, orina o preparados histológicos: a) método de impregnación argéntica o de Levaditi (se emplea en secciones de tejido), b) coloración con tinta china o método de Burri, c) Giemsa, d) rojo Congo, e) tinción con fluoresceína, f) técnica de la inmunoperoxidasa.

3) Cultivo:

El tipo de muestra que se desee cultivar para el aislamiento de leptospiras, dependerá del período en el que se encuentre la enfermedad. Así, para el cultivo de sangre es necesario extraer la muestra durante la primera semana de infección (leptospiemia). Para el caso de la orina, la toma de muestra se realizará a partir de la segunda semana y durante un tiempo variable según la especie animal de que se trate. Además de las citadas, se pueden procesar otras muestras tales como líquido cefalorraquí-

deo, líquido peritoneal, órganos de animales necropsiados, tejidos de fetos abortados, etc. Aguirre (1981). Los medios de cultivo utilizados son: Stuart, Korthof, Fletcher y Ellinghausen. Todos ellos están constituidos por mezclas de sales y fuentes carbonadas, suero de conejo (5-10%) o albúmina bovina fracción V. La incorporación de ciertos componentes tales como hemoglobina y vitamina B₁₂ favorecen el crecimiento. El pH de los medios oscila entre 7,2-7,6. La contaminación puede evitarse por el agregado de 5 fluoruracilo, furazolidona y neomicina. La incubación se realiza a 28-30°C durante 8 semanas (Aguirre, 1981; Cacchione, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985).

4) Inoculación de animales de laboratorio:

El aislamiento a partir de animales inoculados se intenta cuando la muestra está contaminada (Aguirre, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985). Los animales utilizados como "filtros biológicos" para el diagnóstico de leptospirosis, son el cobayo y el hamster recién destetado. (Aguirre, 1981). La susceptibilidad de estos animales a la infección depende de la virulencia de los distintos serovares y cepas (Amatredjo y Campbell, 1975; Aguirre, 1981).

La sangre y el riñón del animal inoculado se destinan al cultivo, mientras que en el suero se puede investigar la presencia de anticuerpos.

5) Análisis serológico:

Puesto que sólo se pueden aislar leptospiras si las muestras fueron recogidas durante el período óptimo en el curso de la enfermedad, el diagnóstico de laboratorio depende frecuentemente de la demostración de anticuerpos leptospirales en el suero (Centro Panamericano de Zoonosis, 1985). Este puede ser conservado en papel de filtro, azúcar o arena estéril (Myers, 1973). Las pruebas serológicas tienen algunas limitaciones: 1) los anticuerpos no pueden ser detectados antes de la segunda semana de la enfermedad; 2) los títulos de los anticuerpos pueden aparecer más tardíamente o ser bajos si el animal ha sido tratado con antibióticos y 3) una reacción con resultado positivo no prueba que la enfermedad haya sido leptospirosis, ya que los anticuerpos encontrados pueden ser el resultado de una inmunización activa o pasiva (Aguirre, 1981).

Las pruebas serológicas más comúnmente utilizadas han sido las que detectan anticuerpos aglutinantes: aglutinación microscópica con antígenos vivos; aglutinación microscópica con antígenos formolados y aglutinación macroscópica (Amatredjo y Campbell, 1975; Aguirre, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985). Algunas otras técnicas empleadas para el diagnóstico serológico de leptospirosis son: aglutinación macroscópica con antígeno termorre-

sistente (TR), la fijación de complemento, la hemoaglutinación, la prueba de hemólisis y más recientemente contra inmunoelectroforesis y E.L.I.S.A.. La mayoría de estas otras técnicas son género-específicas, se aplican a las infecciones en el hombre, no dan buenos resultados con sueros animales y requieren que se disponga de antígenos estandarizados (Centro Panamericano de Zoonosis, 1985; Saraví y col., 1987).

Los anticuerpos aglutinantes aparecen por lo general 7-8 días después del comienzo de la infección, su título se eleva rápidamente, alcanzan su nivel máximo a los 15-20 días y se mantienen por un período variable, de meses a años, según la virulencia de la cepa para la especie afectada (Aguirre, 1981).

El método de la microaglutinación con antígenos vivos es de alta especificidad y el más sensible para detectar anticuerpos aglutinantes. Si bien tiene la desventaja del tiempo y esfuerzo necesarios para el mantenimiento de los antígenos, con riesgo para el personal y sólo accesible a laboratorios bien equipados, tiene otras ventajas: es el procedimiento de referencia; se pueden identificar por esta técnica los aislamientos de leptospiras y clasificar cepas, y sirve de base para evaluar cualquier otro método serológico nuevo para el diagnóstico de la enfermedad (Centro Panamericano de Zoonosis, 1985; Saraví y col., 1987). Dicho método consiste en poner en contacto diluciones progresivas del suero y otros fluidos (orina, humor acuoso ocular, líquido cefalorraquídeo) a analizar, con cultivos de diversos serovares de leptospira que están presentes en la región de donde proceden las muestras. Si se desconoce cuáles son los serovares nuevos, se debería incluir una batería de por lo menos un antígeno por cada serogrupo aceptado en la actualidad por OMS/FAO (Aguirre, 1981). Los antígenos empleados deben ser cultivos frescos de leptospiras (de 4 a 14 días) en medio líquido de Stuart o Korthof, ya que estos medios son los que brindan mayor sensibilidad. Dichos antígenos deben tener una densidad de leptospiras comparable y contener aproximadamente 100-200 microorganismos por campo de gran aumento (45 x). Un método simple de verificar la densidad es comparar el crecimiento frente a un estándar $\frac{1}{2}$ de Mc Farland (Centro Panamericano de Zoonosis 1985). Los cultivos densos poseen baja sensibilidad y viceversa para los cultivos pobres (Myers, 1976).

En una primera etapa se efectúa la prueba de selección preliminar de los antígenos. El suero debe diluirse en solución fisiológica tamponada para obtener una dilución de 1/25. Se utilizan 2 tubos de ensayo por cada an-

tígeno; para ello se colocan 0,2 ml de suero diluido en uno y 0,1 ml del mismo suero diluido y 0,1 ml de solución fisiológica tamponada en el otro. Agregando a ambos tubos 0,2 ml de antígeno estandarizado, se obtienen diluciones finales del suero de 1/50 y 1/100. Luego se agitan los tubos y se incuban a temperatura ambiente durante 2 horas. La lectura se efectúa en microscopio de campo oscuro, registrándose el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control según una escala de 1 a 4 cruces, o como negativo. En una segunda etapa se realiza la determinación de títulos. Todos los sueros que a una dilución de 1/100 reaccionan con una aglutinación del 50% o mayor frente a uno o más antígenos son seleccionados para una nueva titulación. Para estas pruebas, se hacen diluciones dobles de la dilución original del suero de 1/25. Se debe preparar una gradilla con hileras de 8 tubos para cada antígeno reaccionante, cada uno con 0,2 ml de solución fisiológica tamponada. Se coloca 0,2 ml de la dilución del suero 1/25 al primer tubo de la serie, se mezcla y se transfiere 0,2 ml al segundo tubo, mezclando nuevamente. Se repite el procedimiento de dilución hasta el último tubo. Una vez agregado el mismo volumen de antígeno, se alcanzan diluciones del suero de 1/100 a 1/12800. Si el título fuera mayor que la dilución más elevada con cualquiera de los antígenos, se repite el procedimiento efectuando diluciones adicionales del suero. La incubación y lectura de los tubos se realiza según lo descrito para las pruebas de selección. El título de aglutininas de un suero se expresa como la recíproca de la dilución más alta de suero en la cual se haya aglutinado por lo menos el 50% de las células y el 50% se mantuvieran libres (Centro Panamericano de Zoonosis, 1985).

Se ha adaptado una microtécnica para esta prueba, permitiendo una mayor celeridad. Esta adaptación, coincide en sus resultados con la técnica convencional en el 95% de los casos (Galton y col., 1965). A esta técnica se le han introducido otras modificaciones (Cole y col., 1973).

La aglutinación microscópica con antígenos formolados es semejante a la anterior, pero en este caso los antígenos son inactivados con formol al 0,5 - 1%. Si bien esta técnica tiene la ventaja de evitar el mantenimiento de los antígenos, la aglutinación es menos compacta y pasado un cierto tiempo se observa aglutinación inespecífica. Por otra parte se considera que la sensibilidad es menor con respecto a la técnica de antígenos vivos (Aguirre, 1981).

Para realizar la aglutinación macroscópica se utilizan 2 métodos: el efectuado en tubos capilares y el realizado en placas. En medicina veterinaria, se usa como prueba tamiz, permitiendo la titulación final con la técnica de microaglutinación. El antígeno empleado es una suspensión de leptospiras en un diluyente de sales y glicerina e inactivado con formol. La estabilidad es de alrededor de 18 meses. La sensibilidad de la prueba es 5 a 10 veces menor que la de aglutinación microscópica con antígenos vivos. Para la prueba en placa los antígenos se preparan con 12 serovares y se pueden usar en forma individual o en mezclas de 3 serovares diferentes. Se coloca una gota de suero con una gota de cada " trío " de antígenos, sobre una placa de vidrio. Se mezcla y se rota a 125 r.p.m. durante 5 minutos. Luego se observa, si la prueba resulta positiva se repite, enfrentando el suero con cada serovar de antígeno que integra el " trío ". La lectura permite una valuación de negativo a cuatro cruces positivas, según aparezca un 25%, 50%, 75% o 100% de aglutinación (Aguirre, 1981).

Ultimamente se está empleando la prueba en placa con un antígeno termorresistente (TR), para el procesamiento de sueros en porcinos, caninos, equinos y también en el hombre; aún no se ha determinado su valor diagnóstico en bovinos. Dicho antígeno es una fracción termorresistente común al género *Leptospira* sp., que reacciona frente a cualquiera sea el serovar infectante; además su estabilidad supera los 24 meses. La reacción con el antígeno TR está caracterizada por presentar positividad hacia el cuarto día de la enfermedad, negativizándose generalmente a los 45 días (Saraví y col., 1987).

Otra prueba serológica utilizada es la fijación de complemento. Se emplea para detectar anticuerpos de infección reciente y presente, ya que desaparecen en pocos meses. Esta prueba tiene menor especificidad que la microaglutinación, pero a su vez es menos laboriosa y puede ser adaptada a equipos semiautomáticos (Aguirre, 1981). Se pueden utilizar antígenos polivalentes (Hodges y col., 1979; Little y col., 1980).

La inmunofluorescencia indirecta es una técnica que se utiliza para la detección de leptospiras en orina y tejidos. Consiste en poner en contacto el suero problema con el antígeno previamente fijado y secado, sobre un portaobjeto. Ambos actuarán como antígeno frente al anticuerpo, constituido por el suero antiglobulina animal marcado con isotiocianato de fluoresceína. (Aguirre, 1981). Si la muestra es positiva las leptospiras aparecen fluorescentes. La inmunofluorescencia junto con la fijación de complemento y la hemoaglutinación, despertaron grandes expectati-

vas como métodos alternativos de diagnóstico; sin embargo no fueron capaces de reemplazar a la microaglutinación como técnica de uso habitual (Sarraví y col., 1987).

El diagnóstico serológico debe acompañarse de la obtención de datos clínicos, epidemiológicos, ecológicos, etc. Una reacción positiva indica infección pasada o reciente. En animales que padecen la enfermedad el nivel de anticuerpos aumenta rápidamente a partir de la segunda semana del comienzo de la infección, alcanza altos títulos (1/50000 o más) hacia la cuarta semana, para luego descender hasta llegar a valores bajos (1/100 o menos), aproximadamente un año después. Un resultado positivo a título bajo podría ser producto de la fase inicial de la enfermedad o de una leptospirosis pasada. Para dilucidar este resultado, se deben realizar dos muestreos con intervalo de 14-21 días, efectuando, una evaluación que delataría una infección activa, o una igualdad que pondría de manifiesto una etapa pasada (Aguirre, 1981; Centro Panamericano de Zoonosis, 1985). El hecho de encontrar sueros positivos a dos o más antígenos, puede ser debido a la presencia de las llamadas aglutininas de Weismann. Estas "coaglutininas" se forman en respuesta a leptospiras que poseen características antigénicas comunes con otros serovares. Para determinar el serovar infectante debe ser necesario realizar una absorción cruzada de aglutininas. Existen otras coaglutininas inespecíficas que no responden a ninguna fracción antigénica homóloga y su permanencia es efímera. Las mismas obedecen a cambios en el huésped, durante el proceso de la enfermedad, que alteran la composición de los anticuerpos. Otra causa de la presencia de varios anticuerpos en el suero, es la infección sucesiva del animal con diversos serovares (Aguirre, 1981). La "reacción paradójica" es un fenómeno por el cual los títulos de las aglutininas inespecíficas resultan superiores a los homólogos. Este hecho se manifiesta en la etapa aguda de la infección para luego desaparecer (Roberts, 1958).

1.4.8. Tratamiento

Los antibióticos utilizados en leptospirosis han sido la penicilina, estreptomina y terramicina. Los mismos tienen acción durante la fase de leptospiruria o leptospiremia, y disminuyen los títulos serológicos (Michna, 1970; Amatredjo y Campbell, 1975; Cacchione, 1981). La droga de elección es la estreptomina. Su utilización en el período agudo de la infección a serovar pomona produce una rápida recuperación clínica y la eliminación de los microorganismos. El carácter de portador puede eliminarse mediante el uso de estreptomina o penicilina, o ambas simultáneamente. Esta mezcla antibiótica adicionada al semen en dosis correcta, no permite la sobrevivencia de leptospiras.

1.4.9. Profilaxis

Para la elaboración de una vacuna, deben tenerse en cuenta: 1) la selección de los serovares; 2) la elección de cepas; 3) la elección de un medio de cultivo adecuado. La solución de los problemas de los rodeos individuales, consiste en la identificación del serovar o los serovares específicos, debido a que las vacunas protegen solamente contra los serovares que están incluidos en ella y no contra todos. Esta falla en la protección, se produce aún cuando algunos serovares tienen relación antigénica " in vitro " (Amatredjo y Campbell, 1975; Tripathy y col., 1976). Las cepas de un mismo serovar no poseen las mismas condiciones inmunógenas, y aquellas que sean seleccionadas como cepas vacunales, deben tener una actividad antigénica suficiente para producir los anticuerpos mínimos necesarios y desarrollar bien en los medios de cultivo que se utilicen para la producción de inmunógenos. Las vacunas muertas previenen el desarrollo de la sintomatología clínica, pero no eliminan el estado de portador. Por el contrario, las vacunas atenuadas impiden la infección renal y eliminan la condición de portador (Michna, 1970; Hanson y col., 1972; Hanson, 1973; Sullivan, 1974).

1.5. RECORDATORIO DE LA ANATOMIA, HISTOLOGIA Y FISIOLOGIA
DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MACHO BOVINO

1.5.1. Desarrollo genital en el período fetal

La diferenciación sexual en un individuo normal es un proceso complejo que depende de una secuencia ordenada de eventos (Haseltine y Ohno, 1981). En un primer momento, luego de la fecundación, se determina lo que se denomina " sexo cromosómico ", representando el cariotipo XY un macho y el cariotipo XX una hembra (Johnson, 1983). Los determinantes genéticos ubicados dentro de los cromosomas, primariamente el cromosoma Y y el antígeno H-Y, hacen que la gónada indiferenciada del embrión (que está capacitada para dar origen a un testículo o a un ovario), se diferencie hacia un testículo con estructuras reconocibles (cordones medulares), ocurriendo este hecho días antes que para la hembra, donde el desarrollo de estructuras similares (cordones corticales) se produce más lentamente (Jost y col., 1973). Así, en machos normales la expresión de un gen sobre el cromosoma Y, " organiza " la gónada indiferenciada del embrión, para producir una gónada masculina de estructuras que podrían haber formado posteriormente un ovario. Por lo tanto, esta expresión genética de sexo masculino es esencial para la formación testicular (Johnson, 1983).

Según Mc Donald (1978) la diferenciación de los caracteres sexuales depende de la relación cuantitativa entre los genes determinantes de la masculinidad y feminidad y de su interacción con los factores internos y del medio.

El sistema urogenital del embrión está formado sobre todo por tejido mesodérmico que en las primeras etapas de la vida embrionaria constituye las regiones renal y genital. En craneal de la región renal, hay canalículos segmentarios que constituyen el pronefros; cada uno de ellos tiene un conducto pronéfrico que desemboca en la cloaca primitiva.

Posteriormente, se forman otros canalículos segmentarios (en caudal del pronefros) que uniéndose con los pronéfricos, forman otro órgano excretorio, el mesonefros y los conductos mesonéfricos (cuerpo y conductos de Wolff). Luego el pronefros degenera y se forma un tercer órgano excretorio

más en caudal, a partir de una excrecencia del ducto mesonéfrico, que llega a constituir el metanefros o riñón verdadero, con su uréter y vejiga (Roberts, 1979).

Sobre el borde medioventral del mesonefros, a partir de un engrosamiento del epitelio celómico, se origina la gónada indiferenciada del embrión. Estos engrosamientos o eminencias genitales, son invadidos por células germinales primordiales que migran desde la pared del saco vitelino en la región del intestino posterior (Mc Donald, 1978; Roberts, 1979; Amann y Schanbacher, 1983). Esta migración se produce en el feto bovino hacia el día 26 (Hafez, 1984). En esta etapa las gónadas son todavía bipotenciales desde el punto de vista sexual y constan de una médula interna y una corteza externa. Se admite que la médula secreta una sustancia inductora de masculinidad llamada medularina y la corteza otra, llamada cortexina, que induce feminidad. Las células germinales primordiales, procedentes del epitelio germinal, invaden la médula de la eminencia genital para formar cordones sexuales primarios que participarán en la formación de los túbulos seminíferos, dando base a las futuras células de Sertoli. La diferenciación definitiva de las gónadas, depende probablemente de la colonización de los cordones sexuales epiteliales por los gonocitos (precursores de las espermatogonias) que invaden dichos cordones y que aparentemente son de origen endodérmico (Holy, 1983). Los cordones testiculares, los de la red testicular y la túnica albugínea se forman al comienzo del período fetal. La red testicular (rete-testis) se desarrolla como una masa separada de cordones, que establece conexión con los túbulos mesonéfricos renales por un lado, y por otro con los túbulos seminíferos; como resultado, el conducto mesonéfrico se transforma en el conducto excurrente de los testículos. En este momento ocurre la diferenciación gonadal y la bipotencialidad sexual no perdura largo tiempo (Mc Donald, 1978). Esta gónada masculina primitiva dirigirá el desarrollo del sexo fenotípico y la iniciación de su función es esencial para el futuro desarrollo de todo el tracto reproductor (Amann y Schenbacher, 1983; Johnson, 1983). Aún en este período del desarrollo embrionario, tanto los conductos mesonéfricos (ductos de Wólff) como los paramesonéfricos (ductos de Müller) están presentes, independientemente de la constitución genética o gonadal del embrión (Jossso y col., 1977). Estos sistemas ductales son los que darán origen a los

órganos genitales internos. Así, en el macho, a partir de los ductos de Wölff se desarrollarán los conductos eferentes, los epidídimos, los vasos deferentes y las vesículas seminales, mientras que en la hembra los ductos de Müller originarán los oviductos, el útero y la vagina craneal.

El final del período de indiferenciación sexual en el macho está señalado por la regresión de los ductos de Müller (Johnson, 1983). El genoma masculino contiene un programa para producir la inhibición del desarrollo ductal femenino y constituye un ejemplo de " muerte celular programada ". Esta secuencia es activada por hormonas segregadas por la gónada masculina (Amann y Schanbacher, 1983). Las células de Leydig del testículo fetal del bovino, producen testosterona alrededor del día 42 y tienen por función estimular el desarrollo de los ductos mesonéfricos para originar los conductos eferentes, los epidídimos, los vasos deferentes y las vesículas seminales. Los túbulos mesonéfricos que se conectan a la red, forman los denominados conductillos eferentes, localizados en la cabeza del epidídimo. El resto del epidídimo se forma con la primera parte del conducto mesonéfrico; el remanente del conducto forma el conducto deferente y un divertículo terminal forma la vesícula seminal (Hafez, 1984) (figura N° 1, pág. 45).

Por otro lado, las células de sostén indiferenciadas producen una hormona inhibidora de los ductos de Müller, que causa destrucción de las estructuras potencialmente femeninas, conociéndose dicha hormona con el nombre de " hormona antimülleriana ", " factor de regresión mülleriano " o " sustancia inhibidora mülleriana " (Blanchard y Josso, 1974; Josso y col., 1977). Dicha sustancia que parece ser una glicoproteína, tiene un mecanismo de control desconocido, pero se piensa que el mismo involucra al hipotálamo, y la pituitaria (Johnson, 1983).

La testosterona es metabolizada en los tejidos periféricos a dihidrotestosterona, mediante la enzima 5 α reductasa que induce la diferenciación del seno urogenital en próstata, glándulas bulbouretrales, uretra y pene (Amann y Schanbacher, 1983). La testosterona también es transformada en estradiol en los tejidos periféricos, no conociéndose el rol del mismo en el desarrollo del aparato genital masculino (Johnson, 1983).

El seno urogenital es un espacio existente en el embrión, en el que desembocan la vejiga y los conductos de Wölff y Müller; el mismo se une al intestino para formar la cloaca. Al iniciarse la vida fetal se produce

la separación entre el seno urogenital y la terminación del intestino. En el orificio urogenital se forma el tubérculo genital y dentro de él se desarrolla la uretra peneana y el pene. Este tubérculo situado ventralmente en la fosa anal, está limitado por dos crestas: de la cresta interna se origina el prepucio, mientras que de la externa se desarrollan las bolsas testiculares (figura Nº.2, pág. 45).

La invaginación del epitelio uretral, en caudal de las vesículas seminales, da origen a la próstata; más hacia caudal, se realiza otra doble invaginación del epitelio uretral, formando las glándulas de Cowper (Holy, 1983; Hafez, 1984).

El desarrollo final del testículo involucra el descenso testicular, que se produce en el bovino aproximadamente entre los tres meses y medio a cuatro meses de gestación (Roberts, 1979).

La figura Nº 3 (pág.46) muestra el descenso testicular en distintos períodos del desarrollo fetal. El descenso testicular incluye una migración abdominal hacia la parte interna del conducto inguinal; una migración inguinal a través del conducto y finalmente, una migración dentro del escroto. Al descenso escrotal precede la formación del proceso vaginal, un saco peritoneal que se extiende hacia el escroto e incluye el ligamento inguinal de los testículos, el cual junto con el ligamento diafragmático y el mesorquio suspende los testículos fetales. El ligamento inguinal conecta las gónadas y el conducto mesonéfrico; distal a este punto suele llamarsele "gubernaculum testis" y termina en la región de los sacos escrotales. Antes de finalizar el descenso, dicho ligamento se alarga considerablemente. Se piensa que ambos procesos son importantes en el mecanismo del descenso testicular (Hafez, 1984).

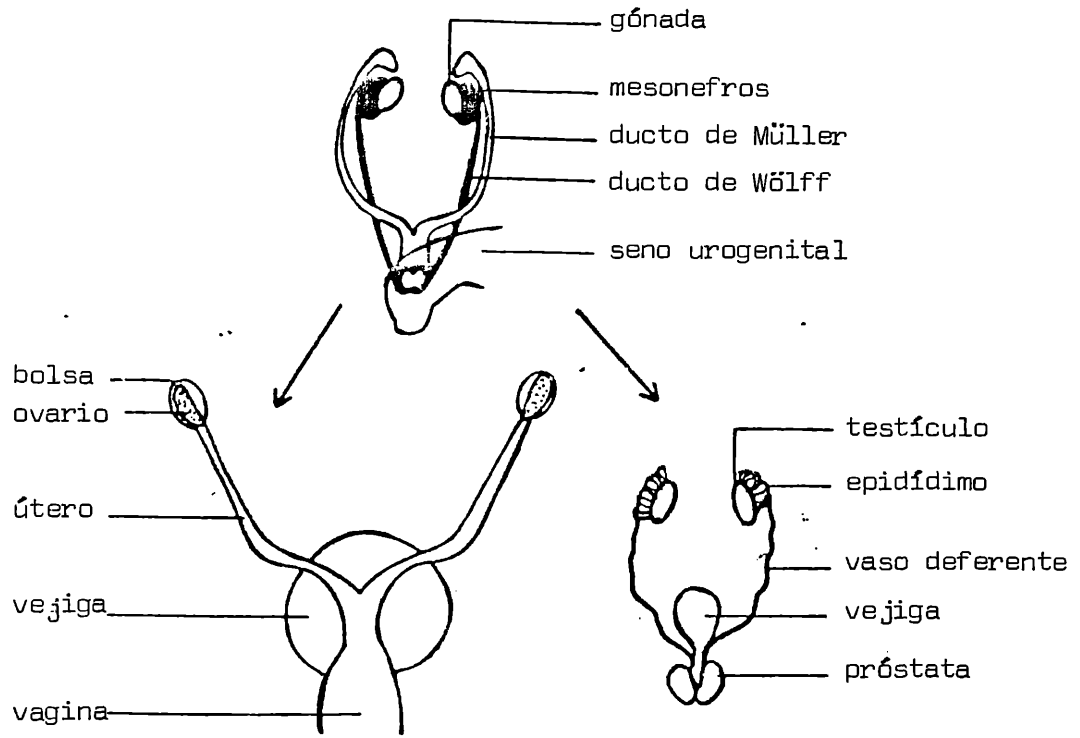


Figura N^o 1: Diferenciación sexual de los genitales internos
(Johnson, 1983).

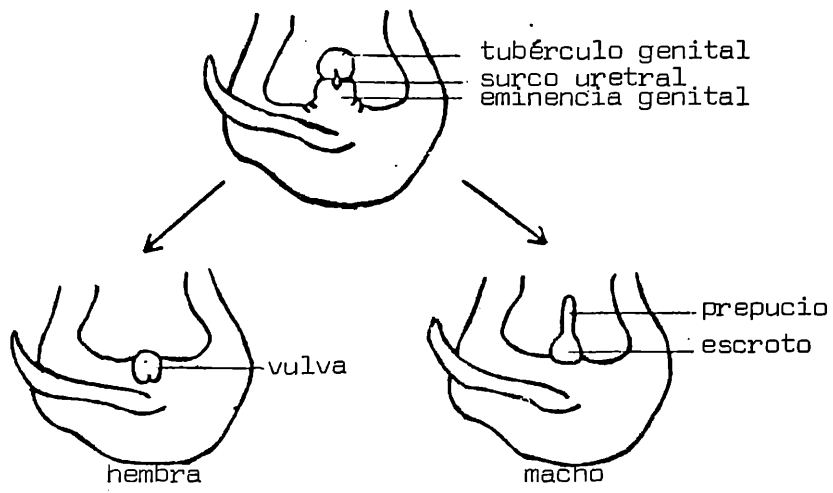


Figura N^o 2: Diferenciación sexual de los genitales externos
(Johnson, 1983).

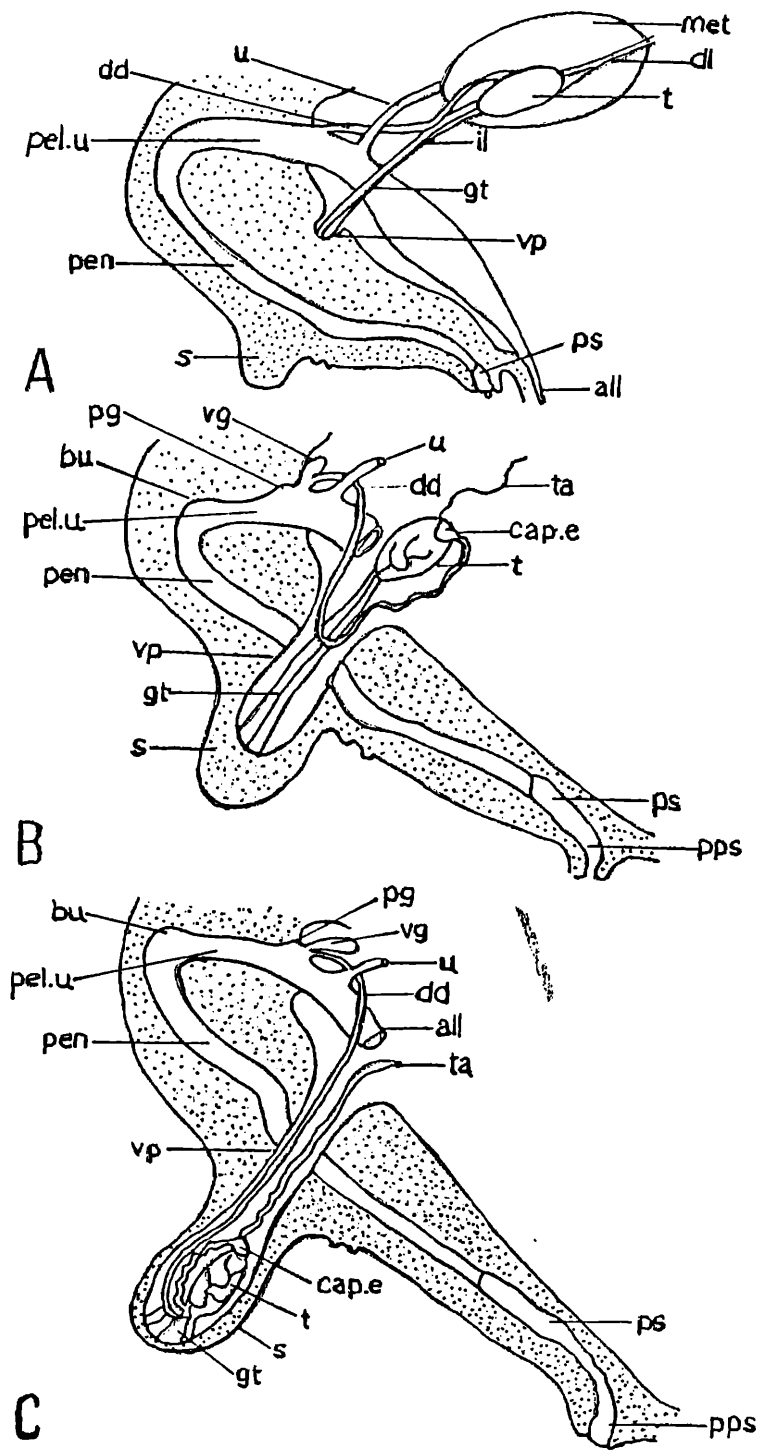


Figura N^o 3 : Diagramas que muestran el descenso de los testículos y el desarrollo del sistema reproductor en el feto bovino. A, a los 62 días; B, a los 102 días y C, a los 140 días.

all, Alantoides; bu, glándula bulbouretral; cap.e, cabeza del epidídimo; dd, conducto deferente; dl., ligamento diafragmático; gt, gubernáculo testicular; il, ligamento inguinal; met, metanefros; pel.u, uretra pélvica; pen, pene; pg, próstata; ps, prepucio peneano; pps, prepucio prepeneano; s, escroto; t, testículo; ta, arteria testicular; u, uréter; vg, glándula vesicular; vp, proceso vaginal (Hafez, 1984).

1.5.2. Órganos Genitales en el animal adulto

1.5.2.1. Escroto

El escroto es un divertículo del abdomen que aloja los testículos, de forma ovoidea, comprimido de adelante hacia atrás, largo y péndulo (Sisson y Grossman, 1973). El mismo está situado entre los muslos , debajo del margen púbico de la pelvis, en la región inguinal (Holy, 1983).

Por delante del escroto se encuentran los pezones rudimentarios. Las capas que constituyen la pared escrotal, de afuera hacia adentro son : a) la piel, la cual está escasamente cubierta de pelos, y su color varía de acuerdo a las razas. La misma está provista de glándulas sebáceas y sudoríparas. La superficie del escroto está dividida por una línea media, el rafe escrotal, que se continúa por delante con el rafe peneano y por detrás con el periné; b) el dartos, que consta de tejido fibroelástico y de fibras musculares no estriadas, es de color rojizo y forma a lo largo del rafe un tabique que divide al escroto en dos bolsas. El dartos está adherido por fibras a la túnica vaginal y por tejido areolar a la túnica subyacente; c) la fascia escrotal que deriva de los músculos oblicuos abdominales; d) la capa parietal de la túnica vaginal, saco fibroso que se continúa con el peritoneo parietal del abdomen, en el anillo inguinal interno. En su parte látero-posterior la envuelve el músculo cremáster externo. La otra serosa dependiente del peritoneo, cubre la superficie testicular y se denomina capa visceral de la túnica vaginal o túnica vaginal propia. Dicha túnica se compone de un mesotelio y de una capa de tejido conjuntivo que se fusiona con la túnica albugínea. Entre ambas capas se encuentra un espacio, la cavidad de la túnica vaginal, que a través del anillo vaginal se comunica con la cavidad abdominal.

La irrigación depende de la arteria pudenda externa y la inervación del nervio genital, rama del genitofemoral que se origina del segundo al cuarto nervio lumbar y en el perineal (Roberts, 1979).

La principal función del escroto es protectora y termorreguladora. Esta última función que cumple en forma conjunta con los músculos cremastéricos y la red de vasos espermáticos, es de importancia fundamental para

asegurar una correcta espermatogénesis (Mc Donald, 1978).

La túnica y el cremáster externo, son los principales responsables del mecanismo termorregulador (Roberts, 1979), ya que al contraerse o relajarse, mantienen los testículos cerca o lejos del cuerpo, dependiendo de la temperatura ambiental. Normalmente la temperatura escrotal es más baja que la corporal, existiendo diferencias de 4°C a 7°C (Holy, 1983).

1.5.2.2. Testículos

Los testículos o glándulas sexuales tienen una función endócrina (producción de hormonas) y otra exócrina (producción de espermatozoides) que son elementales para el proceso de la reproducción.

El testículo bovino tiene forma ovoidea; su eje mayor es vertical, siendo posterior su borde de inserción. En su polo superior se sitúa la cabeza del epidídimo, mientras que en el inferior se ubica la cola epididimaria. En su borde medio-caudal se localiza el cuerpo del epidídimo, siendo libre el borde cráneo-lateral (Sisson y Grossman, 1973).

El tamaño testicular depende de la edad, la raza y el desarrollo corporal (Holy , 1983). Se ha informado que el peso testicular de un toro adulto varía entre 250 y 500 g (Sisson y Grossman, 1973; Hafez, 1984), mientras que la longitud oscila entre 10 y 16 cm, (Sisson y Grossman, 1973; Holy , 1983) y el ancho entre 6 y 8 cm ; frecuentemente se observa una leve asimetría entre uno y otro testículo (Holy , 1983).

El testículo se mantiene dentro de la bolsa escrotal gracias a la túnica vaginal (evaginación del peritoneo) y al cordón espermático. Este último se compone de: la arteria espermática, las venas espermáticas, que forman el plexo pampiniforme alrededor de la arteria, los linfáticos, los nervios autónomos de los plexos mesentérico renal y posterior, que forman el plexo espermático alrededor de los vasos del cordón, el conducto deferente, el músculo cremáster interno y la capa visceral de la túnica vaginal.

El testículo está revestido por una cápsula de tejido conjuntivo y fibras elásticas, que recibe el nombre de túnica albugínea.

En su capa vascular existen numerosas ramas de la arteria y vena testiculares que también participan en el mecanismo de la termorregulación del testículo. Al escindir la túnica albugínea, sobresale el parénquima testi-

cular que es de color amarillo o marrón bronceado. De esta túnica parten tabiques incompletos de tejido conjuntivo hacia el parénquima testicular dividiéndolo para formar lóbulos testiculares. El mediastino testicular es un cordón de tejido conectivo de 0,5 cm de grosor que desde el borde de inserción testicular atraviesa la glándula; de él irradian las principales trabéculas. Dentro de los lóbulos testiculares se hallan los túbulos seminíferos que tienen una longitud estimada en 5000 m para el toro (Roberts, 1979). Estos túbulos tienen al principio un recorrido tortuoso, pero posteriormente se unen con otros túbulos, formando los túbulos rectos que entran en la rete-testis, estructura de espacios anastomosados ubicada en el mediastino del testículo. Los conductos eferentes que en número de doce, proceden de la red, perforan la albugínea y penetran en la cabeza del epidídimo.

Histológicamente cada túbulo seminífero se halla rodeado por una lámina basal que tiene proyecciones hacia las células de sostén. Existen además fibrillas colágenas que siguen la dirección longitudinal de los túbulos, y células peritubulares, de naturaleza contráctil con reacción fosfatasa alcalina. Los espacios existentes entre los túbulos seminíferos están ocupados por células intersticiales en asociación con los linfáticos y vasos sanguíneos. Estas representan aproximadamente el 7% del volumen total del testículo. Son poliédricas y su citoplasma contiene numerosas vacuolas lipídicas y una abundante cantidad de retículo endoplásmico. Dichas células son activas durante el estadio embrionario, permanecen inactivas durante el desarrollo posterior y se reactivan en la pubertad (Dellmann y Brown, 1976; Amann y Schanbacher, 1983).

Las células de Leydig son el sitio de origen de los esteroides testiculares, incluyendo la testosterona, la progesterona y probablemente los estrógenos. La producción de esteroides por el testículo está correlacionada con la cantidad de retículo endoplásmico liso de las células de Leydig (Amann y Schanbacher, 1983). El colesterol es producido a partir del acetato, dentro del retículo endoplásmico de estas células y es almacenado como compuesto libre o esterificado. La escisión de la cadena lateral del colesterol para su transformación en pregnenolona, se produce en la mitocondria, mientras que la metabolización de pregnenolona en testosterona es realizada en el retículo endoplásmico liso.

La testosterona es necesaria para cumplir las siguientes funciones:

- 1) Diferenciación sexual de los genitales externos, y descenso del testículo al escroto en el feto.
- 2) Queratinización del epitelio prepucial, separación entre el glande y el prepucio, y desarrollo del pene y prepucio en la pubertad.
- 3) Desarrollo y mantenimiento de las glándulas sexuales accesorias, para que aporten sus secreciones al semen en el momento de la eyaculación.
- 4) Estimulación de la conducta sexual normal (libido) y de la capacidad para la erección y copulación normales.
- 5) Mantenimiento de las características sexuales secundarias, crecimiento de pelo y cuernos, actitudes masculinas, timbre de los sonidos emitidos, aumento del grosor de los huesos, aumento del tejido muscular con una distribución diferente de grasa respecto de la que presenta la hembra, debido a efectos anabólicos proteicos.
- 6) Mantenimiento de las actividades secretorias y de absorción y de las estructuras de los conductos eferentes, los epidídimos y los conductos deferentes, incluidas las ampollas.
- 7) Acción sobre la espermatogénesis junto con la hormona folículo-estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) (Dellmann y Brown, 1976; Roberts, 1979).

Los túbulos seminíferos se componen de un epitelio estratificado con dos tipos de células: las células de sostén o de Sertoli y las células espermatogénicas. Las células de Sertoli son somáticas, tienen morfología piramidal y su base descansa sobre la membrana basal, encontrándose en el toro, en número de 25 a 30 por túbulo. Su núcleo situado en la parte más ancha de la célula, presenta un nucleolo de gran tamaño. Sus procesos citoplásmicos se extienden al lumen del túbulo seminífero y envuelven las células germinales en desarrollo. Las células de Sertoli proporcionan el único eslabón de comunicación a través de la barrera hematotesticular. La función precisa de estas células en la espermatogénesis no está totalmente dilucidada pero se sabe que suministran el microambiente requerido para el desarrollo de las células germinales (Amann y Schanbacher, 1983). Los organelos dentro de la célula de Sertoli, incluyendo el retículo endoplásmico, tienen un rol activo en la modificación de las espermatidas durante la elongación nuclear y formación del acrosoma; además fagocitan los espermatozoides en regresión y los cuerpos residuales desprendidos de las espermatidas (Dellmann

y Brown, 1976; Amann y Schanbacher, 1983). Las células de Sertoli tienen un papel fundamental en el control hormonal de la espermatogénesis. Así, la acción de la FSH sobre la espermatogénesis es indirecta, vía células de Sertoli. A través de la barrera hematotesticular, la FSH penetra por la parte basal de la célula de Sertoli y en respuesta a la estimulación de esta hormona y con disponibilidad de testosterona, las células de Sertoli secretan fluidos y productos específicos tales como una proteína ligadora de andrógeno (PLA) e inhibina. El rol funcional de la PLA se cree que reside dentro de los túbulos seminíferos o epidídimos donde probablemente dicha proteína atenúa los cambios en la concentración de testosterona o ayuda al transporte de esta última. Se piensa que la inhibina suprime la secreción de FSH (Amann y Schanbacher, 1983).

El número de células de Sertoli se establece en la pubertad y éste es constante en el macho adulto.

Diversas células espermatogénicas que representan fases diferentes del desarrollo y diferenciación de los espermatozoides, se localizan entre las células de sostén y por encima de ellas. La sucesión de fases del desarrollo de los espermatozoides a partir de la espermatogonia, se denomina espermatogénesis. Este proceso incluye tanto a la espermatocitogénesis o formación de espermatoцитos primarios y secundarios, a partir de espermatogonias tipo A, como a la espermiogénesis, es decir la formación de espermatozoides fértiles maduros a partir de espermátides inmaduras (figura N° 4, pág.62).

La espermatogénesis se inicia con la división mitótica de la espermatogonia, de la cual se diferencian tres tipos: A, intermedia y B. En el toro, se producen un total de seis divisiones mitóticas: tres divisiones A, una división intermedia y dos divisiones B. La mitosis de una espermatogonia germinal (Tipo A) origina una célula hija que es comienzo de una serie espermatogénica. La otra célula hija se convierte en una nueva célula germinal, permaneciendo inactiva hasta que las descendientes de la primer célula hija, dan lugar a los espermatoцитos primarios, en cuyo momento se divide y origina otra vez una nueva célula precursora y una célula que comienza una serie espermatogénica.

De esta forma se garantiza la continuidad de las células germinales y la espermatogénesis ininterrumpida.

Los espermatocitos primarios son el resultado de la última división mitótica de las espermatogonias de tipo B. Al comienzo de su desarrollo son similares a ellas. Posteriormente, dan lugar a las células más grandes de toda la serie espermatogénica. Se sitúan en una posición más central dentro de la pared del tubo que las de los estadios previos. Estos espermatocitos primarios originan por meiosis los espermatocitos secundarios y las espermatidas. Finalmente por una serie de transformaciones citoplasmáticas y nucleares se produce la diferenciación de espermatidas en espermatozoides. Esta etapa comienza en los túbulos seminíferos y se completa en el epidídimo (Mc Donald, 1978).

Al principio, las espermatides tienen un núcleo esférico rodeado por un citoplasma con muchas mitocondrias (Roberts, 1979). Durante su maduración estas células se hallan envueltas por las proyecciones de las células de sostén. Posteriormente el núcleo se alarga y aplanado (Dellmann y Brown, 1976). De la zona de Golgi surge el acrosoma. El citoplasma y los centriolos se trasladan al lado opuesto del núcleo; los centriolos dan origen al filamento axial, y más tarde al cuerpo y cola de los espermatozoides. Las mitocondrias se ordenan más tarde como un collar en torno del filamento axial, como hélix mitocondrial, para formar la parte media.

Al final de la espermatogénesis, el citoplasma no utilizado y el material de Golgi, que ahora se denomina gotita citoplásmica, se ubican en la región del cuello del espermatozoide; esto se produce dentro del testículo; el espermatozoide se despoja de la gotita citoplásmica cuando atraviesa el epidídimo (Roberts, 1979).

La espermatogénesis puede ser clasificada en una serie de asociaciones celulares, basándose en la observación microscópica de túbulos seminíferos seccionados transversalmente, en un toro sano y adulto, (Holy , 1983).

Un tubo seminífero contiene un número de reserva de espermatogonias A_0 (cero) que no integran habitualmente la línea germinal y que son extremadamente resistentes a la radiación o agentes tóxicos. Un número de " espermatogonias madre " A_1 en un área determinada del tubo " se compromete " a producir sincrónicamente, espermatogonias diferenciadas A_2 y la serie de células germinales resultantes de estas espermatogonias diferenciadas A_2 , al unísono. La progenie de una espermatogonia madre A_1 permanece unida por puentes intercelulares, excepto si la célula muere, rompiendo

entonces la cadena de células interconectadas. A causa de que una población sincrónica de células germinales en desarrollo ocupa un área considerable de la membrana basal de un túbulo seminífero, la mayor parte de las secciones transversales a través de un túbulo seminífero tiene la misma apariencia. Sin embargo, secciones transversales adyacentes frecuentemente tienen una apariencia diferente (Amann y Schanbacher, 1983).

Durante la espermatogénesis se hallan asociados cuatro o cinco tipos de células específicas desde la membrana basal del túbulo seminífero a su luz, adoptando una disposición en capas (Mc Donald, 1978; Amann y Schanbacher, 1983). Cada capa representa una generación celular. De acuerdo con lo expuesto, en el toro se han descrito ocho asociaciones celulares. El esquema de clasificación de estos ocho estadios se ha desarrollado teniendo en cuenta la morfología de las espermátides y la relación entre todos los tipos de células germinales (Amann y Schanbacher, 1983).

Otra alternativa para definir las asociaciones celulares es la que se basa en la morfología del acrosoma durante el desarrollo de la espermátide y para ello se ha estimado un número de doce asociaciones celulares. La serie completa de asociaciones celulares se denomina ciclo del epitelio seminífero. El intervalo requerido para que una serie completa de asociaciones celulares aparezca en un punto de un túbulo, es lo que se denomina la duración del ciclo del epitelio seminífero. Esta duración es constante para cada especie y no está influenciada por ningún factor conocido. En el toro un ciclo tiene una duración de trece días y medio, y se necesitan aproximadamente cuatro o cinco ciclos desde que una espermatogonia comienza a diferenciarse hasta la liberación de un espermatozoide. Por lo tanto la duración de la espermatogénesis en el toro es de 61 días.

1.5.2.2.1. Barrera Hematotesticular

Los túbulos seminíferos no están atravesados por vasos linfáticos ni sanguíneos. Las células germinales que están dentro de los túbulos se protegen de los cambios químicos de la sangre mediante una barrera de permeabilidad especializada. Dicha barrera está formada por: las células mioideas que rodean al túbulo y las uniones entre las células de Sertoli adyacentes, siendo estas últimas el componente principal de la barrera.

Las uniones complejas entre las células de Sertoli contienen múltiples zonas de adhesión donde se fusionan las membranas opuestas. Estas uniones dividen funcionalmente a los túbulos seminíferos en dos compartimientos: un compartimiento basal y otro adluminal. El primero contiene espermatozoides que se dividen por mitosis, mientras que el segundo contiene un ambiente aislado especial en el que los espermatocitos sufren meiosis y las espermátides se diferencian en espermatozoides. Existe un tercer compartimiento, el compartimiento intersticial, que está ubicado por fuera de los túbulos seminíferos y que incluye las células de Leydig, que rodean dichos túbulos y los bañan con un líquido rico en testosterona.

La barrera hematotesticular excluye la entrada de algunas sustancias, permite la libre transferencia de otras y retiene ciertos niveles específicos de sustancias tales como PLA, inhibina, inhibidores de enzimas, etc. Además evita las reacciones autoinmunes al aislar las espermátides en desarrollo (Amann y Schanbacher, 1983; Hafez, 1984).

1.5.2.2.2. Control Hormonal de la Función Testicular

Antes de iniciarse la pubertad, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) es segregada por los centros hipotalámicos y liberada en el sistema portahipofisario en pulsaciones moderadas, alcanzando las células basófilas delta de la adenohipófisis, e induciendo así la liberación de las hormonas gonadotróficas FSH e ICSH (LH) (Roberts, 1979; Amann y Stanbacher, 1983; Holy , 1983). La acción de la FSH se efectúa sobre los túbulos seminíferos, conduciendo a la espermatogénesis, siempre que haya ocurrido producción de andrógenos por las células de Leydig. Además, estimula la producción de estrógenos y de la PLA a través de las células de Sertoli; también participa en el proceso de transición de espermatogonia a espermatocito primario (Roberts, 1979; Courot, 1980; Amann y Schanbacher, 1983; Holy, 1983; Hafez, 1984).

La ICSH (LH) estimula el desarrollo de las células intersticiales del testículo y la secreción de testosterona y otros andrógenos por dichas células. El eje hipotalámico-hipofisario-gonadal es un sistema que se regula por sí mismo. La secreción de ICSH es controlada por una compleja interacción entre los esteroides sexuales y la GnRH. En el toro adulto, una

liberación de ICSH es seguida de una elevación en las concentraciones de testosterona sérica. Los niveles de testosterona en sangre dictaminan el patrón de secreción de ICSH; así, cuando estos niveles se elevan como resultado de una producción incrementada por el testículo o en respuesta a la inyección de hormona exógena, se ejerce una retroalimentación negativa ("feed back") sobre el hipotálamo para suprimir la descarga pulsátil de GnRH, suspendiéndose de ese modo la producción de ICSH desde la adenohipófisis. Consecuentemente, las células de Leydig reciben menos estimulación de ICSH que resulta en menor producción de testosterona.

La inhibina, segregada por las células de Sertoli, suprime la descarga de FSH de la adenohipófisis. Los estrógenos son producidos por las células de Leydig y por las de Sertoli; la proporción entre testosterona y estrógenos puede afectar la cantidad relativa de ICSH y FSH segregada por las células basófilas (figura N° 5, pág. 63).

Con respecto a la prolactina, aún no se conoce el verdadero rol de esta hormona sobre el aparato reproductor del toro.

1.5.2.3. Epidídimos

El epidídimo está firmemente adherido al testículo a lo largo del borde posterior del mismo. Se reconocen tres partes anatómicas. La cabeza, que está compuesta por los conductos eferentes y el conducto del epidídimo, se ubica en el polo superior del testículo. Esta se continúa con el cuerpo, que es delgado y se localiza en el borde medio-caudal de la glándula, terminando en lo que se denomina cola epididimaria. La cola ocupa el polo inferior del testículo y su contorno es visible en el animal vivo (Hafez, 1984).

Los conductos eferentes se disponen en forma de cono con su vértice dirigido hacia la rete-testis. Los mismos están revestidos de epitelio pseudoestratificado ciliado, que favorece el movimiento de los espermatozoides, hacia el ducto epididimario. Las células sin cilios, con microvellosidades, están implicadas probablemente en procesos de resorción, mientras que existe un tercer grupo celular con actividad secretora.

La pared del conducto del epidídimo tiene una capa prominente de fibras musculares circulares y un epitelio pseudoestratificado con células

basales esféricas y células prismáticas provistas de estereocilios (microvellosidades citoplásmicas ramificadas.). Estudios histológicos y enzimáticos realizados en los últimos años han permitido subdividir el ducto epididimario en seis segmentos diferentes, que probablemente cumplan distintas funciones en el proceso de maduración de los espermatozoides (Dellmann y Brown, 1976). Los segmentos iniciales del epidídimo cumplirían una función de absorción que se lleva a cabo en forma activa en la cabeza del epidídimo. La función secretora es característica del ducto epididimario, y la misma es fundamental para mantener la viabilidad de los espermatozoides durante su almacenamiento. Los espermatozoides en suspensión diluída se transportan a través de los conductillos eferentes por la acción del epitelio ciliado, ayudado por la contracción de la musculatura de la pared del conducto , por la acción de las células musculares lisas de la túnica albugínea y por las células mioideas de las paredes de los túbulos seminíferos. El tiempo que requiere el transporte de espermatozoides a través del epidídimo, es de 10 días en el toro (Hafez, 1984). El epidídimo es el sitio de almacenamiento y maduración de los espermatozoides. En el toro el 45% de los espermatozoides se almacenan en la cola (Dellmann y Brown, 1976).

1.5.2.4. Conducto Deferente

El conducto deferente es la continuación del conducto del epidídimo y se extiende desde la cola epididimaria hasta la porción pelviana de la uretra (Sisson y Grossman, 1973; Dellmann y Brown, 1976). Su porción inicial se sitúa dentro del cordón espermático y está rodeado por las venas del plexo pampiniforme, arterias, vasos linfáticos, nervios y células musculares lisas del músculo cremáster interno. En su curso intraabdominal se separa de los vasos testiculares y se sitúa en el interior de un pliegue peritoneal. Desde su origen hasta la superficie dorsal de la vejiga tiene de tres a seis mm de diámetro. La porción terminal del conducto se ensancha para formar una ampolla que en el toro mide de 10 a 12 cm de largo y 1,2 a 1,5 cm de ancho (Sisson y Grossman, 1973). Hacia caudal las ampollas se estrechan, pasan por debajo del cuerpo de la próstata y se unen al conducto excretor de la vesícula seminal para formar el ducto eyaculatorio, que se abre por el

colículo seminal dentro de la uretra.

La mucosa replegada del conducto deferente está revestida por un epitelio pseudoestratificado y tiene una gruesa túnica muscular. La porción ampular contiene en la submucosa glándulas túbulo-alveolares, revestidas de células con alturas variables que varían desde prismáticas altas con núcleos ovoides, a cúbicas con núcleos esféricos. Con frecuencia se observan proyecciones apicales vesiculosas que indican actividad secretora; también se observan células basales. Tanto el primer tipo celular como el segundo, contienen lípidos en su interior.

Normalmente en la luz alveolar se observa presencia de espermatozoides.

1.5.2.5. Glándulas Accesorias

Las vesículas seminales, las glándulas bulbouretrales y la próstata, vierten sus secreciones en la uretra, donde en el momento de la eyaculación, se mezclan con la suspensión de espermatozoides y las secreciones de las ampollas del conducto deferente (Hafez, 1984). El mecanismo de secreción es andrógeno dependiente (Mann, 1974).

1.5.2.5.1. Vesículas Seminales

Las vesículas seminales consisten en un par de glándulas genitales ubicadas en el piso de la pelvis, en craneal y lateral de las ampollas y del cuello vesical (Roberts, 1979). Dicha glándulas son lobuladas y miden de 10 a 13 cm de longitud, entre 3 a 5 cm de ancho y entre 2 y 3 cm de grosor. A veces se observa asimetría entre ambas glándulas (Sisson y Grossman, 1973; Hafez, 1984). Una gruesa cápsula de tejido conectivo las cubre y envía trabéculas entre los alvéolos (Sisson y Grossman, 1973). Tanto los alvéolos como el canal central están revestidos por epitelio pseudoestratificado con células prismáticas altas y células basales pequeñas. Las células secretoras prismáticas tienen pequeñas vacuolas de grasa y glucógeno y a veces proyecciones apicales en forma de vesículas. Las células basales presentan grandes gotas lipídicas, con frecuencia en posición infranuclear (Dellman y Brown, 1976). El producto de secreción de las vesículas seminales representa el 25 a 30% del eyaculado total en el toro. La actividad secretoria es predominantemente apócrina y ello explica el alto contenido enzimático del líquido de estas glándulas, así como el origen de los llamados "cuerpos lipídicos", partículas que pueden observarse por microscopía en el semen eyaculado (Mann, 1974).

1.5.2.5.2. Próstata

Se distinguen dos componentes: una parte externa claramente lobulada o

cuerpo, ubicado en dorsal del cuello de la vejiga y del origen de la uretra y una segunda parte, interna o diseminada, distribuida a lo largo de la uretra pélvica, bajo el músculo uretral. Sus secreciones se vierten junto al semen en el momento de la eyaculación, por medio de muchos conductos que se abren hacia la uretra pelviana en lateral del colículo seminal. Posee estructura tubular ramificada. Los tubos secretorios, los avéolos y los conductos interglandulares están revestidos por epitelio cúbico o prismático simple, con células basales ocasionales. La contribución de las secreciones prostáticas al volumen total del eyaculado es del 4 al 6%. La próstata secreta ácido cítrico, espermina, y algunas sales. Aparte de esta función, la próstata es capaz de neutralizar el plasma seminal que se acidifica por la acumulación de dióxido de carbono metabólico (Dellmann y Brown, 1976).

1.5.2.5.3. Glándulas Bulbouretrales

Las glándulas bulbouretrales o de Cowper se encuentran en número de dos y se ubican a cada lado de la uretra pelviana, cerca del arco isquiático; están cubiertas por una gruesa capa de tejido fibroso denso y parcialmente por el músculo bulbocavernoso. Cada una posee un conducto simple que se abre en la uretra por debajo de un pliegue de la membrana mucosa. Estas glándulas son tuboalveolares. Las porciones secretoras de las mismas están revestidas por un epitelio alto prismático simple y células basales ocasionales. La secreción de las glándulas bulbouretrales es mucosa y proteinácea y en los rumiantes se descarga antes de la eyaculación (Dellmann y Brown, 1976).

La irrigación de todas las glándulas accesorias descritas proviene de la arteria pudenda interna. La inervación, corresponde a los nervios autónomos originados en el nervio hipogástrico y en el plexo pelviano (Roberts, 1979).

1.5.2.6. Prepucio

El prepucio es una doble invaginación de la piel que contiene y cubre la porción libre o preescrotal del pene cuando no está en erección y cubre el cuerpo del pene por detrás del glande cuando aquel está erecto (Sisson y Grossman, 1973; Roberts, 1979). En el momento del nacimiento, el pene no se halla libre en la cavidad prepucial ya que las superficies epiteliales del pene y prepucio están adheridas al pliegue prepucial. Dicho pliegue se desdobra en una capa visceral y en otra parietal, por virtud de un proceso citolítico que forma vesículas, que al fusionarse dan origen a la cavidad prepucial. La separación de las capas visceral y parietal se halla subordinada a la influencia de los andrógenos (Mc Donald, 1978).

La porción externa del prepucio se extiende desde el escroto hasta 5 - 7 cm del ombligo, donde se refleja ventral y lateralmente, formando el reborde grueso del orificio prepucial; dorsalmente se continúa directamente con la pared abdominal. Esta capa externa se refleja a su vez hacia dentro del orificio prepucial, para formar la capa interna del prepucio, originando así una estructura en forma de tubo (Dellman y Brown, 1976). El orificio prepucial tiene de 2 a 4 cm de diámetro y está rodeado por pelos largos. El prepucio en el toro es largo y estrecho, midiendo aproximadamente 35 a 40 cm de largo y 3 cm de diámetro (Sisson y Grossman, 1973).

La capa externa es piel típica. La capa interna está constituida por dos capas: una parietal, que tapiza la cavidad prepucial y otra visceral que cubre el pene. Esta capa interna o membrana de revestimiento es un tegumento modificado de movimiento libre que sólo está adherida firmemente en el glande y orificio prepucial (Roberts, 1979).

La misma forma pliegues longitudinales, está cubierta con epitelio estratificado escamoso y posee glándulas tubulares espirales (Sisson y Grossman, 1973). Esta capa y la mucosa peneana contienen nódulos linfáticos solitarios (Dellman y Brown, 1976).

Las arterias son ramas de la arteria pudenda externa y las venas abocan principalmente en la vena pudenda externa.

Los nervios derivan de los nervios pudendo, iliohipogástrico e ilio-inguinal (Sisson y Grossman, 1973; Roberts, 1979).

Existen dos pares de músculos prepuciales que derivan del músculo cutáneo. Los primeros, o músculos protractores, son dos cintas planas de 5 a 6 cm de ancho que se originan cerca de la región xifoidea, se dirigen hacia atrás, divergiendo de modo tal que a nivel del ombligo están separados por una distancia de unos 5 cm, y se unen nuevamente detrás del orificio prepucial. Estos músculos dirigen el prepucio hacia adelante. Los segundos, o músculos retractores, se originan en la región inguinal y convergen en la parte anterior del prepucio; dirigen el prepucio hacia atrás. A veces los músculos retractores pueden faltar.

1.5.2.7. Pene

El pene se extiende hacia adelante, desde el arco isquiático hasta la región umbilical, a lo largo de la pared abdominal. Por delante del escroto se ubica en el prepucio; inmediatamente por detrás del escroto forma una curva en S, la flexura sigmoidea, que está presente cuando el pene se encuentra retraído, pero desaparece en el momento de la erección. El pene del toro es de forma cilíndrica y la longitud en el animal adulto es de aproximadamente 90 cm (Sisson y Grossman, 1973; Roberts, 1979; Holy , 1983).

La parte terminal del pene se denomina glande; éste está libre dentro del prepucio, es aplanado dorsoventralmente, mide cerca de 8 cm y su extremidad es aguda y torcida.

El orificio uretral externo está situado en la extremidad del surco formado por esta torsión. El glande está recubierto por epitelio escamoso estratificado y contiene sólo un delgado estrato superficial de tejido eréctil; por este motivo experimenta muy ligero engrosamiento durante la erección (Sisson y Grossman, 1973).

El cuerpo, se compone del cuerpo cavernoso del pene, que está encerrado en una gruesa cápsula fibrosa, la túnica albugínea. En la región ventral del pene se halla el cuerpo cavernoso uretral, que rodea a la uretra. De la túnica albugínea, se origina un tabique central de tejido conjuntivo que más allá de la primera curva de la S se continúa como cinta, de donde irradian numerosas trabéculas, que determinan hendiduras de tamaño variable. Los espacios entre la túnica albugínea y la red de trabéculas tienen abundante tejido eréctil. En los rumiantes el tejido eréctil se compone de cavernas revestidas de endotelio. Los espacios cavernosos reciben su aporte de sangre de arterias con una disposición helicoidal, designadas como arterias helicinas. En la túnica íntima de dichas arterias, se encuentran células musculares epitelioides que obliteran parcialmente la luz arterial. Cuando las células musculares lisas se relajan, aumenta el flujo sanguíneo dentro del cuerpo cavernoso y se produce la erección. Los espacios cavernosos desaguan en vénulas, varias de las cuales dan origen a venas de gruesa pared. El predominio del tejido conjuntivo de la túnica albugínea y las trabéculas hacen que el pene del toro sea clasificado como de tipo fibroelástico.

La estructura muscular del pene está compuesta por una serie de músculos. El músculo isquiocavernoso, es un músculo doble que nace en la tube-

rosidad isquiática y el ligamento sacrociático, y se inserta en los pedúnculos y el cuerpo del pene. Tira el pene hacia la pelvis y contribuye a mantener la erección, al comprimir las venas dorsales del mismo. El músculo retractor del pene es un músculo liso que se origina de la primera y segunda vértebra coccígeas, se divide y se vuelve a unir bajo el ano; luego pasa a lo largo de la superficie ventral del pene y se adhiere a la túnica albugínea de éste. Su acción consiste en retraer al pene haciéndolo volver al prepucio cuando cesa la erección. El músculo uretral de forma semilunar, envuelve parcialmente la uretra participando activamente en los mecanismos de micción y eyaculación.

El músculo bulbocavernoso, que se extiende desde el arco isquiático hasta el glande del pene, es continuación del músculo uretral sobre la uretra extrapelviana. Su función es la de vaciar la porción extrapelviana de la uretra.

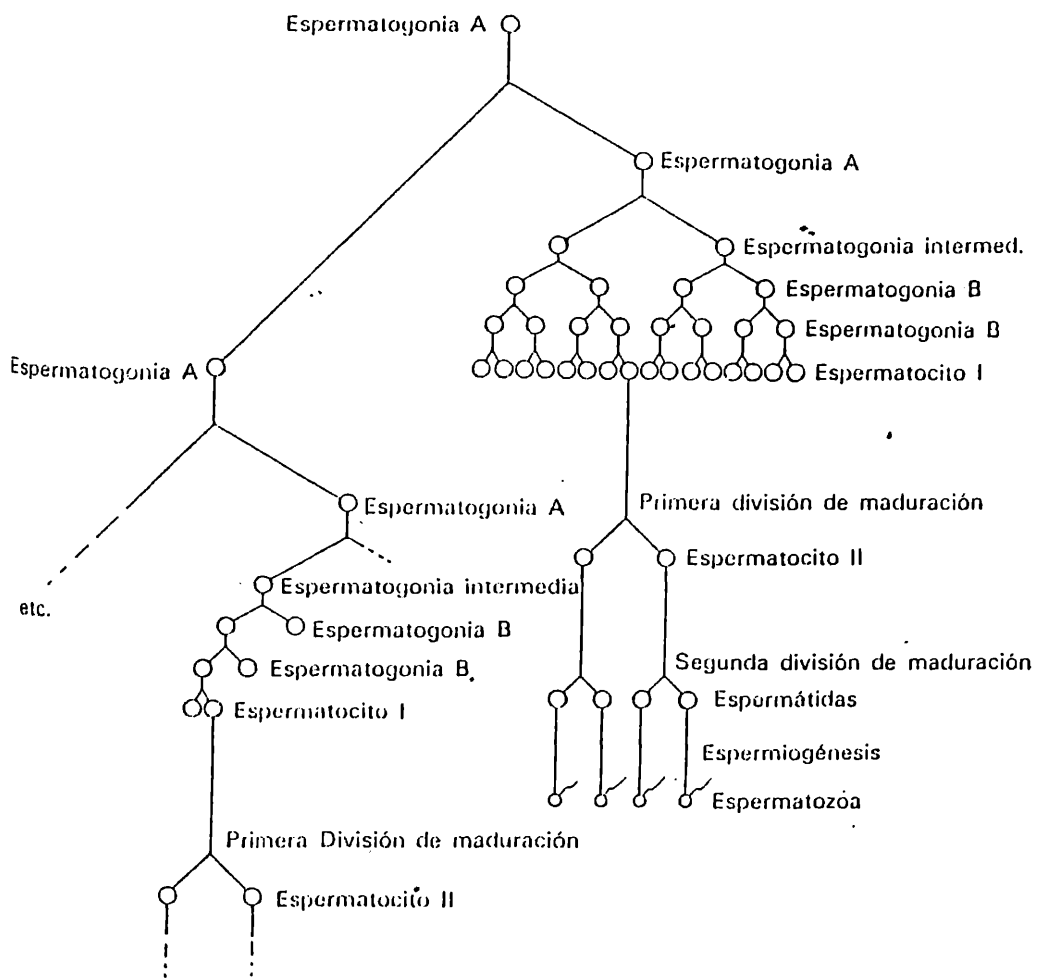


Figura Nº 4 : Dibujo esquemático de las fases sucesivas de la espermatogénesis, (Dellmann y Braun, 1976).

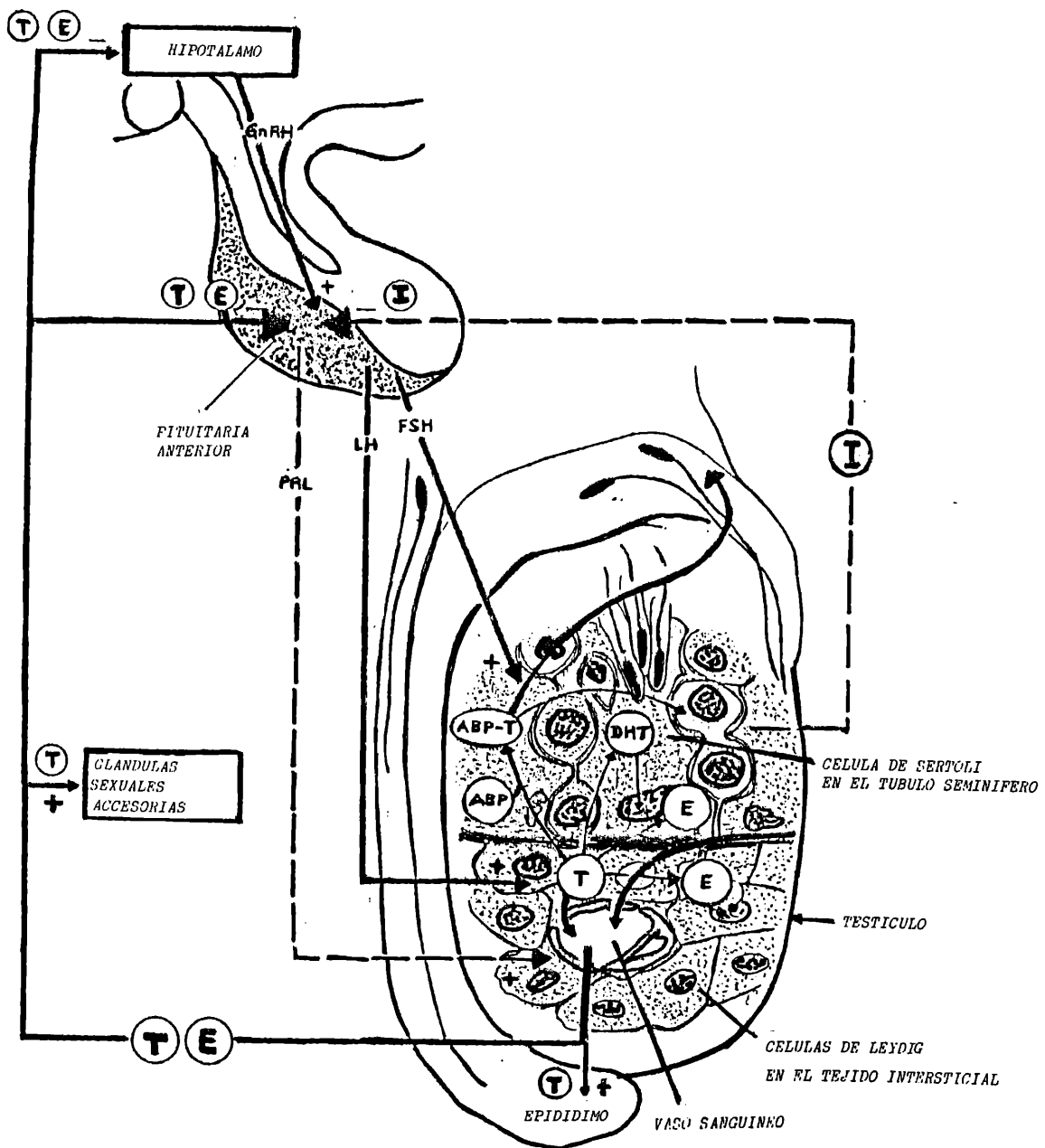


Figura Nº 5 : Este diagrama muestra las interrelaciones entre la producción de hormona en las células de Leydig y los túbulos seminíferos y el control de retroalimentación de las hormonas gonadales sobre el hipotálamo y el lóbulo anterior de la glándula pituitaria. Un nivel aumentado de testosterona (T) en la sangre periférica, ya sea como resultado de producción aumentada por los testículos o siguiendo a la inyección de hormona exógena, ejerce una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo, para suprimir la descarga pulsátil de Gn RH y de este modo suspender la descarga de hormona luteinizante (L.H.) de la pituitaria anterior. Consecuentemente las células de Leydig reciben menos estimulación de LH, que resulta en menor producción de testosterona. Los estrógenos son producidos por las células de Leydig y en algún grado por las células de Sertoli. La proporción, testosterona - estrógenos al alcanzar la pituitaria anterior, puede afectar las cantidades relativas de LH y FSH segregadas

por los gonadotrofos. Sobre la base de estudios realizados con carneros, se ha demostrado que la inhibina (I) suprime la descarga de FSH de la pituitaria anterior, Los roles fisiológicos de los estrógenos y la prolactina (PRL) en machos domésticos adultos no son bien conocidos. Las células de Sertoli producen una proteína ligadora de andrógenos que sirve como un portador para la testosterona y puede ayudar a mantener una alta concentración de andrógenos dentro de los túbulos seminíferos o proveer testosterona al epitelio que tapiza la porción proximal del epidídimo (Amann y Schanbacher, 1983).

1.6. Antecedentes sobre alteraciones patológicas de órganos genitales registradas en toros

Distintos grupos de trabajo han llevado a cabo estudios sobre afecciones de órganos genitales de toros, con el fin de conocer las causas hereditarias o adquiridas, que determinan los desórdenes reproductivos y hacen que los animales sean enviados a faena.

Los procesos patológicos de los distintos órganos del aparato genital pueden ser clasificados en congénitos o adquiridos. Los procesos adquiridos, son los más frecuentes y generalmente son de naturaleza traumática o infecciosa.

1.6.1. Prepucio y Pene

Entre los defectos de naturaleza congénita o del desarrollo se han citado los siguientes : frenillo prepucial persistente, hipospadias, pene corto, pene bífido y pene desviado (Mosaheb y Ladds, 1973; Saunders y Ladds, 1978; Roberts, 1979; Wolfe y col., 1983).

El frenillo o frenulum es una banda de tejido conectivo que se extiende desde el prepucio a la punta del glande (Wolfe y col., 1983; Sponenberg, 1985). En la pubertad se produce la separación entre el pene y el prepucio y esta banda se rompe, quedando un fragmento de tejido que pende del rafe del glande del pene. La persistencia del frenillo prepucial causa desviación del pene, impidiendo la protrusión normal. Esta alteración patológica fue registrada en razas tales como Shorthorn, Aberdeen Angus y Hereford (Wolfe y col., 1983; Sponenberg, 1985) con una incidencia variable entre 0,36% y 1% (Carroll y col., 1963; Mosaheb y Ladds, 1973; Turnbull, 1977). En Argentina, Casaro y Ballabene (1971) estudiaron el tracto genital de 29 toros de frigorífico, diagnosticando en un caso persistencia del frenillo prepucial.

Se define como hipospadias a la abertura congénita de la uretra en la cara inferior del pene. Saunders y Ladds (1978) encontraron hipospadias en el 0,3% de 968 toros de frigorífico, que fueron evaluados para determinar defectos congénitos o del desarrollo, mientras que Carroll y col. (1963) detectaron esta afección en el 0,17% de 10940 toros de rodeo.

Otra anomalía observada en los toros es el pene congénitamente corto. Esta falta de desarrollo del pene se manifiesta por una falla del toro para

extender el pene a más de 10 o 15 cm.; si el toro es joven puede llegar a aparearse naturalmente, pero esta afección se agrava cuando el toro es viejo, ya que su abdomen se engrosa y pierde agilidad, resultando imposible la cópula (Roberts, 1979).

Wolfe y col. (1983) informaron sobre ocho casos de pene corto en un estudio realizado durante un período de seis años en Alabama, donde se registraron los problemas prepuciales y peneanos más habituales en bovinos.

Roberts (1979) ha descrito un caso de doble pene, bifalo, donde estaba impedida la copulación normal debido a la configuración en horquilla del órgano.

La desviación del pene o falocamposis puede ser de tipo congénito o adquirido. La misma es una causa común de dificultad o incapacidad para copular y de pérdida de libido. Esta lesión patológica impide la cópula y ocurre en tres formas: espiral, ventral y en forma de S, y es común en razas tales como Shorthorn, Angus y Hereford mocnos. La desviación en espiral ocurre en más de un 50% de toros sanos durante la cópula. En condiciones normales, el ligamento apical del pene contrarresta la desviación que este sufre durante la erección; cualquier injuria que pueda sufrir este ligamento conduce a la desviación. Otro mecanismo por el cual se ha explicado esta alteración, es el que involucra la contracción de los músculos retractores del prepucio, (Roberts, 1979; Wolfe y col. 1983). Wolfe y col. (1983) constataron la presencia de desviación en espiral en 17 toros, de los cuales cinco eran de raza Aberdeen Angus.

Si bien algunas de las anomalías expuestas puede ser corregida quirúrgicamente (frenillo prepucial, hipospadias y ciertos tipos de desviación peneana), la utilización de reproductores que sufran cualquiera de las afecciones descritas se ve limitada dado el carácter heredable de las mismas.

Las alteraciones patológicas adquiridas encontradas en prepucio son: laceraciones, traumatismos, abscesos, postitis y prolapso prepucial. Las laceraciones ocurren generalmente en el coito y se observan casi siempre en la cara ventral del prepucio; las mismas pueden ser superficiales o profundas, dependiendo del grado de compromiso de las capas elásticas. Un traumatismo que se observa con frecuencia es el que sufren los toros sometidos a recolección de semen con vagina artificial. Este permite una sobreextensión del pene, con la consecuente separación entre el prepucio y la parte libre de aquel, produciéndose un desgarramiento en el anillo prepucial, manifestado por hemorragia en el pene (Roberts, 1979; Wolfe y col., 1983).

Los abscesos, son por lo común secuelas de laceraciones de prepucio. Mosaheb y Ladds (1973) encontraron abscesos prepuciales en 6 sobre 550 toros revisados que fueron enviados a faena; un porcentaje similar fue informado por Turnbull (1977) en un estudio posterior. El microorganismo que se aísla comúnmente de los abscesos de prepucio es Corynebacterium pyogenes (Mosaheb y Ladds, 1973; Turnbull, 1977; Wolfe y col., 1983).

La postitis en bovinos puede ser de origen traumático o infeccioso (Lagneau, 1961; Roberts, 1979). En el caso de etiología infecciosa varios agentes, entre ellos Spherophorus necrophorus, enterovirus, el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) y el virus de la vulvovaginitis infecciosa bovina (IPV), fueron aislados en casos de postitis producidas en toros de centros de inseminación artificial en Inglaterra y Polonia (Huck y col., 1971, Majewzka y col., 1980). La infección por el virus de la IPV se caracteriza por presencia de úlceras y pústulas en las mucosas peneana y prepucial, e hipertrofia de los folículos linfoides de ambas mucosas. Otro tipo de postitis que se observa en toros es la denominada postitis ulcerativa o acrobustitis, descrita en Uruguay por Riet Correa y col. (1978). Sobre 1096 toros examinados, la incidencia fue del 63,5% para animales adultos. Las características histológicas de las lesiones prepuciales fueron acantosis, paraqueratosis e hiperqueratosis seguidas por invasión de leucocitos en el epitelio y ulceración. Corynebacterium renale se aisló reiteradamente de los prepucios de estos toros. Debido a la presencia de la bacteria, las lesiones histológicas y la mayor incidencia en animales con altos niveles de nutrición, se supone que la lesión se produce por la presencia de amoníaco, que resulta de la hidrólisis de la urea por Corynebacterium renale. Con anterioridad, en nuestro país, Canter (1972) y Long y Rodríguez Dubre (1972) informaron sobre una entidad similar a la descrita, sin atribuirle etiología. Las postitis pueden llevar a la esterilidad por trastornos en la erección, siguiendo un doble mecanismo: en la forma aguda, por el dolor y la tumefacción y en la forma crónica, por la aparición de adherencias y un proceso de estenosis que hace difícil, sino imposible, la exteriorización del pene (Lagneau , 1961).

El prolapso prepucial ha sido registrado clínicamente y también en animales de matadero (Mosaheb y Ladds, 1973; Wolfe y col., 1983).

Mosaheb y Ladds (1973) diagnosticaron 17 casos sobre 550 toros de frigorífico (3,1%). Hay predisposición al prolapso en toros con prepucio pendulo-

so, ya sea en razas índicas o cruza; también hay alta incidencia en toros mochos (Aberdeen Angus y Polled Hereford), probablemente por la ausencia de los músculos retractores en estos últimos (Wolfe y col., 1983). La tumefacción desarrollada en el tejido prepucial puede conducir a fimosis en el caso de que se vea impedida la extensión del pene, o a parafimosis cuando existe imposibilidad de retraer el pene dentro del prepucio, en casos de laceración prepucial posterior a la extensión peneana.

En las alteraciones patológicas peneanas, el factor trauma ha sido considerado de importancia sobre todo en la zona del glande; se han observado contusiones, erosiones del proceso uretral y laceración o pérdida completa del extremo del glande (Lagneau, 1961; Turnbull, 1978).

El hematoma peneano o fractura de pene es común en los toros y ocurre generalmente durante el coito. Se rompe la túnica albugínea con hemorragia del cuerpo cavernoso del pene, éste se vuelve edematoso, tumefacto y aumenta de tamaño (Sponenberg, 1985). El coágulo que se forma al comienzo, posteriormente se organiza y ello puede conducir al desarrollo de adherencias.

Según Wolfe y col. (1983) parece ser que el hematoma peneano prevalece en toros de raza Hereford, ya que sobre 31 casos registrados por los autores durante un período de seis años, el 54,8% pertenecía a dicha raza; la terapia del hematoma puede ser conservadora o quirúrgica (Roberts, 1979; Wolfe y col., 1983).

Otra de las alteraciones patológicas con alta casuística en el pene de bovinos, es el fibropapiloma. Este es un tumor de toros jóvenes, sexualmente maduros, producido por el virus del papiloma bovino, que penetra a través de abrasiones o heridas de la mucosa peneana (Sponenberg, 1985). Los papilomas pueden ser únicos o múltiples, sésiles o pedunculados. El signo común es la hemorragia y el rechazo del toro al servicio (Wolfe y col., 1983). Estos tumores pueden curarse espontáneamente por el desarrollo de inmunidad adquirida natural o artificialmente, o bien pueden ser extraídos por cirugía (Olson y col., 1968; Roberts, 1979; Wolfe y col., 1983; Sponenberg, 1985).

1.6.2. Testículos

1.6.2.1. Anomalías congénitas y del desarrollo

La hipoplasia testicular es muy frecuente en toros (Roberts, 1979). La misma puede ser de tipo hereditaria, como es el caso de la raza Highland sueca. La hipoplasia afecta mayormente al testículo izquierdo y es debida a un gen recesivo simple con penetración incompleta. De acuerdo a la opinión de varios autores, parecería ser que los casos registrados de hipoplasia testicular son congénitos y posiblemente de origen hereditario, como consecuencia de la falta o acentuada reducción de las espermatogonias de las gónadas durante la vida fetal (Humphrey y Ladds, 1975 a). Hay otras 2 formas especiales de hipoplasia que han sido descritas por Knudsen (1961 a, 1961 b) donde se ha involucrado como causa a las alteraciones cromosómicas. La acción de factores exógenos que actúan durante la gestación también han sido citados como causa de hipoplasia (Humphrey y Ladds, 1975 a). El testículo hipoplásico se observa generalmente después de que aparece la pubertad (Jubb y Kennedy , 1973) y su tamaño es de un cuarto o un tercio respecto del normal (Humphrey y Ladds, 1975 a); su consistencia es similar a la del testículo normal y sobresale al seccionarlo. Histológicamente es difícil diferenciarlo de un testículo con cambios degenerativos.

La ocurrencia de esta alteración varía según los autores. Así, Galloway en Australia (1961) informó sobre un 0,6% de toros con hipoplasia testicular, al revisar 326 animales de frigorífico. Carrol y col. (1963) en Estados Unidos encontraron un 1,3% de toros con hipoplasia testicular al examen clínico. Posteriormente Saunders y Ladds (1978), detectaron un 0,2% de toros con hipoplasia gonadal sobre 968 animales evaluados. Blom (1983) en Dinamarca registró 7 sobre 33 casos de hipoplasia uni o bilateral, en un estudio sobre alteraciones patológicas en órganos genitales y en semen de toros. De estos siete, uno tenía el denominado " síndrome de sólo células de Sertoli ".

Los toros con hipoplasia bilateral son estériles y por lo tanto incapaces de transmitir el defecto. El peligro existe en aquellos que están afectados parcialmente (Gledhill, 1973). Casaro y Ballabene (1970/71) informaron sobre hipoplasia testicular unilateral en uno sobre 29 toros de frigorífico.

El criptorquidismo es otra afección hereditaria que se caracteriza por la localización de uno o ambos testículos dentro de la cavidad abdominal o

dentro del canal inguinal (Humphrey y Ladds, 1975 a). Este defecto es poco frecuente en el toro (Bishop, 1972; Derivaux, 1976; Roberts, 1979). Tanto macroscópicamente como microscópicamente el testículo criptórquido es similar al testículo hipoplásico (Humphrey y Ladds, 1975 a). Ladds y col. (1973) en Australia han registrado 1,8% de toros criptórquidos al revisar 550 machos de matadero, mientras que en un estudio posterior Saunders y Ladds (1978) informaron sobre un 0,6% de animales con criptorquidismo.

Un defecto considerado de probable origen genético, es la variación en el grado de desarrollo del músculo cremáster (Roberts, 1979; Sponenberg, 1985). Normalmente en el toro, el músculo cremáster termina al nivel de la cabeza del epidídimo, pero cuando este músculo se extiende a una considerable distancia por debajo del testículo, la gónada adopta una posición horizontal, en lugar de la posición vertical que debería tener. Sponenberg (1985) ha observado algunos casos en los que el testículo se mantenía en posición tan cercana al cuerpo, que ocurría degeneración testicular, debido a la elevada temperatura de los testículos.

1.6.2.2. Alteraciones Patológicas Adquiridas

La degeneración testicular, es una causa muy importante de infertilidad, y la misma es un proceso progresivo que incrementa con la edad (Jubb y Kennedy, 1973; Sponenberg, 1985).

En los casos de degeneración testicular han sido citadas causas térmicas, mecánicas, infecciosas, traumáticas, nutricionales, vasculares, hormonales e inmunitarias (Humphrey y Ladds, 1975 a; Sponenberg, 1985). Haq (1949; citado por Humphrey y Ladds, 1975 a) en Inglaterra, realizó un estudio clínico y post-mortem sobre 33 toros de razas productoras de carne y leche con sospecha de infertilidad, registrando cambios degenerativos en el 57,6% de estos toros. Posteriormente en Japón, Kanagawa (1960,1961) detectó un 20% de toros con degeneración testicular en un estudio efectuado en frigorífico. Turnbull y Mc Kay (1973) informaron sobre un caso de degeneración testicular y espermiostasis epididimaria en un toro con azoospermia.

La mayoría de los testículos afectados muestra anomalías macroscópicas aunque éstas pueden ser sólo de tamaño y consistencia. Los testículos con procesos degenerativos son generalmente más blandos que los normales y en los casos avanzados hay una reducción de tamaño y presencia de una gónada firme (Sponenberg, 1985). Las lesiones encontradas en los testículos afec-

tados , varían desde vacuolización del epitelio germinal, hasta calcificación y fibrosis, con compromiso completo del parénquima testicular.

Condiciones misceláneas como testículos supernumerarios y testículos con morfología alterada, fueron citadas por algunos autores (Carroll y col, 1963; Ladds y col., 1973; Humphrey y Ladds, 1975 a).

Cambios circulatorios tales como trombosis testicular y edema han sido observados por Ladds y col. (1973) en porcentajes del 0,4% y 0,7% respectivamente; si la trombosis es extensiva, el cuadro puede resultar en necrosis del testículo (Humphrey y Ladds, 1975 a).

Las lesiones inflamatorias del testículo son en su mayoría de origen bacteriano y aparentemente desarrollan por vía hematógena o por invasión de los microorganismos vía conducto deferente (Sponenberg, 1985). Si el proceso es unilateral, puede efectuarse la orquiectomía sin perjuicio del testículo homólogo, hecho que debe ser considerado cuando se desea conservar algún reproductor de valor (Wolfe y col., 1985).

Las orquitis han sido clasificadas en intersticiales, intratubulares y necróticas (Humphrey y Ladds, 1975 a). Las primeras no pueden ser reconocidas macroscópicamente y se caracterizan a la observación microscópica, por aumento del tejido intersticial e infiltración mononuclear de dicho tejido. Las orquitis intratubulares son detectables por macroscopía; en las mismas aparecen focos solitarios o múltiples de 1 cm de diámetro, de color blanco- amarillento. Histológicamente se conserva la estructura tubular, pero el epitelio germinal es reemplazado por neutrófilos y detritus, pudiendo observarse en algunos casos presencia de células gigantes. Al corte se observan áreas amarillas, secas, laminadas y a veces calcificadas. El cuadro histológico es una necrosis coagulativa, con fibrosis e infiltración mononuclear.

La incidencia para esta alteración varía entre 0,2% para autores australianos (Ladds y col., 1973) y 13,3% para autores japoneses (Kanagawa, 1960, 1961).

Una gran cantidad de virus, bacterias y otros microorganismos como mycoplasmas y chlamydias, han sido aislados en casos de orquitis.

Casos de fibrosis y calcinosis testicular fueron descritos en bovinos. Galloway (1961) detectó fibrosis testicular en el 3,7% de 326 toros de frigorífico. Humphrey y Ladds (1975 b) demostraron en un estudio realizado sobre 80 toros, que hay una estrecha asociación entre la fibrosis ventral del testículo y la edad del animal; cuanto más edad tiene el toro más colágeno se deposita en el polo inferior de su testículo. En los casos de fibro-

sis ventral, se detectan comúnmente lesiones vasculares en el área afectada (Sponenberg, 1985). Se ha relacionado la degeneración hialina de las paredes de las arteriolas, con casos de fibrosis en el polo testicular inferior de los toros viejos (Mc Entee, 1959; Jubb y Kennedy, 1973).

Se observa frecuentemente la calcificación de los túbulos seminíferos. Este proceso sigue a la espermiostasis y degeneración testicular (Humphrey y Ladds, 1975 a; Sponenberg, 1985). La mayoría de las veces la deposición es intratubular, pero en las degeneraciones agudas el calcio puede estar depositado en el estroma (Jubb y Kennedy, 1973). En Australia, Galloway (1961) detectó 21,5% de calcinosis testicular en toros de matadero mientras que en un estudio posterior, Ladds y col. (1973) registraron dicha alteración en el 24% de los toros examinados. En la India; Maurya y col. (1968) encontraron calcinosis en el 9,5% de toros búfalo, sobre un total de 450 revisados. Un porcentaje similar fue informado por Montes (1984) en Cuba, quien observó 8 toros afectados por calcinosis, sobre 78 analizados (10,2%).

Las adherencias entre las capas parietal y visceral de la túnica vaginal son comunes (Humphrey y Ladds, 1975 a) y han sido registradas en porcentajes que oscilan entre 11,5% y 96,9% (Galloway, 1961; Kanagawa, 1960, 1961; Ladds y col., 1973). Las mismas pueden originarse como resultado de traumas o procesos inflamatorios; en los animales jóvenes no tienen significación patológica.

Las neoplasias testiculares primarias son raras en toros y no están asociadas con cambios hormonales (Humphrey y Ladds, 1975 a). En el toro, el tumor testicular más común es el de las células intersticiales. En el bovino, estos tumores son de color naranja bronceado, nodulares y de consistencia blanda; miden desde unos pocos mm hasta 6,5 cm o más. El grado de pigmentación se relaciona con el tamaño del tumor. Generalmente estos tumores se detectan en animales viejos (Humphrey y Ladds, 1973; Sponenberg, 1985). Mc Entee (1958, 1959) encontró que los tumores de células intersticiales son más comunes en la raza Guernsey. La incidencia registrada en estudios llevados a cabo en Estados Unidos varió del 7,1% al 12,1% (Dunn y Mc Entee, 1964; Mc Entee, 1958, 1959).

El tumor de células de Sertoli es visto ocasionalmente en el toro, pero con mucha menos frecuencia que el citado anteriormente (Sponenberg, 1985). Se origina de las células de Sertoli. Estos tumores son muy grandes, nodulares y muy firmes. Su color es blanco grisáceo. Por causa de su arquitectura, han sido denominados "adenomas tubulares". La ocurrencia de esta afección

es inferior al 1 % (Ladds y col., 1973; Ladds y Saunders, 1976).

Los seminomas son tumores derivados del epitelio germinal que se caracterizan por su gran tamaño, son más bien de consistencia blanda, de color blancuzco y tienen tendencia a la hemorragia o necrosis (Humphrey y Ladds, 1973; Roberts, 1979). Microscópicamente las figuras mitóticas son comunes.

Veznik (1960) encontró 2 toros con seminoma, sobre 62 revisados, que tenían problemas de fertilidad. Posteriormente Bhagwat y col. (1972) describieron una formación tumoral de 10 cm de diámetro que consideraron un seminoma, en un animal que había sido emasculado 6 meses antes.

1.6.3. Epidídimos

Entre las anomalías congénitas del epidídimo pueden citarse: la aplasia segmentaria del ducto mesonéfrico, los ductos eferentes ciegos y aplásicos, y los remanentes de los ductos mesonéfricos y paramesonéfricos.

La aplasia segmentaria del ducto mesonéfrico involucra el epidídimo, en el cual uno de los segmentos está ausente (Humphrey y Ladds, 1975 a). König y col. (1972) han considerado que esta alteración se debería a un gen recesivo autosómico. El porcentaje de toros afectados por aplasia segmentaria varía entre 0,1 y 5% (Humphrey y Ladds, 1975 a) considerándose la anomalía congénita más común (Sponenberg, 1985). Generalmente, cuando existe aplasia segmentaria también está afectada la vesícula seminal y la ampolla del conducto deferente (Roberts, 1979; Sponenberg, 1985). Se ha observado que los segmentos del epidídimo que más frecuentemente sufren esta alteración son el cuerpo y la cola. Cuando está afectada la cabeza del epidídimo hay fallas en la absorción de los materiales secretorios que proceden del testículo, de modo tal que se produce una presión inversa, que da por resultado edema y degeneración testicular. Si el defecto está en la cabeza o cuerpo no habrá pasaje de esperma a la cola, entonces ésta tiene un tamaño muy reducido (Sponenberg, 1985). Blom (1982) informó sobre un único caso de aplasia de los ductos eferentes, durante un período de 40 años de experiencia en patología reproductiva. Los signos encontrados eran aspermia y presencia de una protuberancia quística en la región de la cabeza epididimaria. Al estudio post-mortem se observó: ausencia de anomalías en el resto de los genitales, un epidídimo de tipo juvenil y pérdida del área verdosa, que

caracteriza los ductos eferentes. La histología reveló ductos eferentes colapsados y vacíos; en la rete testis había acumulación de cabezas de espermatozoides desprendidas y una severa reacción inflamatoria intersticial.

Se han citado también casos de ductos eferentes congénitamente ciegos, pero dicha afección es poco común. Una consecuencia de los ductos ciegos es la espermiostasis, con espermatocele y a veces granuloma espermático (Roberts, 1979, Sponenberg, 1985).

Los remanentes del ducto paramesonéfrico o mesonéfrico pueden hallarse en los toros pero son de poca importancia. Estos pueden encontrarse cerca de la cabeza y de la cola y algunos pueden estar revestidos por células ciliadas; son los denominados "quistes de medusa". Los quistes paramesonéfricos o útero masculino pueden ser detectados en la superficie dorsal del pliegue urogenital, entre las ampollas y el conducto deferente o raramente en el epidídimo o cerca de él (Roberts, 1979).

Un hallazgo detectado por Galloway (1961) y Humphrey y Ladds (1973) ha sido la melanosis epididimaria.

Granulomas espermáticos no infecciosos pueden observarse en la región de los ductos eferentes. Así, los túbulos eferentes ciegos determinan la migración de los espermatozoides dentro de los segmentos ciegos, produciéndose degeneración y desarrollándose un granuloma espermático. El mismo puede ser bilateral o unilateral. El hecho de que la reacción producida sea similar a la observada en la tuberculosis, es debida al ácido micólico que contienen los espermatozoides (Sponenberg, 1985).

Las adherencias finas observadas en la cola del epidídimo no tienen significación patológica (Humphrey y Ladds, 1975 a).

Las epididimitis debidas a bacterias, comienzan usualmente en la cola, produciendo un aumento de tamaño y de la consistencia y luego se extienden al cuerpo y cabeza. Generalmente el porcentaje de toros afectados es bajo, oscilando entre 0,1 y 2,4% (Humphrey y Ladds, 1975 a). La mayoría de los casos no son diagnosticados hasta que la lesión se hace crónica (Sponenberg, 1985). Numerosas bacterias y virus han sido aislados en casos de epididimitis (Roberts, 1979). La invasión epididimaria de Br. abortus provoca posteriormente lesiones granulomatosas (Lambert y col., 1963; Trichard y col., 1982).

Casos de metaplasia de la cabeza del epidídimo se han observado en toros por envenenamiento con naftalenos clorados. Otra alteración patológica que se ha descrito en los epidídimos bovinos es la adenomiosis, la misma se ca-

racteriza por la invasión del epitelio en las capas musculares de los túbulos epididimarios. Parece ser que la misma está causada por estimulación estrogénica. Se ha informado sobre un 6,2% de toros afectados, sobre un total de 695 animales de un centro de inseminación (Sponenberg, 1985).

1.6.4. Vesículas seminales

Para el caso de las vesículas seminales, la principal anomalía congénita es la aplasia segmentaria del conducto mesonéfrico.

Parece ser que en el 80% de los casos dicha alteración se limita al lado derecho (Bagshaw y Ladds, 1974 a). Usualmente la misma ocurre en asociación con defectos similares en distintos sectores del epidídimo (Sponenberg, 1985). También puede detectarse hipoplasia del ducto mesonéfrico (Bagshaw y Ladds, 1974 a). Se ha considerado que estos casos de aplasia, pueden atribuirse a factores hereditarios (Konig y col., 1972).

Las vesículas seminales son más frecuentemente afectadas por procesos inflamatorios que los testículos y epidídimos (Mc Lean, 1959). La ocurrencia de vesiculitis varía según las regiones y el tipo de rodeo (Bagshaw y Ladds, 1974 a). Así, Mc Entee (1958) no detectó reacciones inflamatorias en las vesículas seminales de 147 toros faenados. Luego, el mismo autor (1962) informó sobre un 4,7% de vesiculitis en un total de 343 toros evaluados por examen clínico. Para Carroll y col. (1963) dicho porcentaje fue algo menor, encontrando un 2,5% de toros afectados sobre 7359 revisados.

Ball y col. (1968) encontraron un 49% de animales con lesiones en sus vesículas seminales, al efectuar un estudio histológico.

Se ha estimado que en Estados Unidos el 18% de los toros de razas para carne pertenecientes a establecimientos o centros de inseminación artificial han tenido vesiculitis, mientras que para toros de razas lecheras la incidencia es de aproximadamente 1%. Sin embargo, aún con una baja incidencia, la enfermedad es un serio problema, cuando se trata de toros utilizados para inseminación artificial, ya que en estos casos los microorganismos patógenos pueden transmitirse a una población.

Villar y col. (1987) recientemente han realizado la primera descripción nacional de brotes de vesiculitis en toritos menores de 2 años. La enfermedad apareció en 5 establecimientos de Buenos Aires y Santa Fé, de los cuales 3 tenían un origen genético común.

Varios agentes, entre ellos virus, bacterias y mycoplasmas han sido

citados como causa de esta alteración (Jubb y Kennedy, 1973; Bagshaw y Ladds, 1974 a; Roberts, 1979). En áreas donde la brucelosis es endémica, Br. abortus está involucrada como causa directa de vesiculitis (Sponenberg, 1985). Corynebacterium pyogenes es frecuentemente aislado en los casos de vesiculitis seminal (Mc Entee, 1962; Bagshaw y Ladds, 1974 a).

Las vesiculitis pueden ser diagnosticadas por palpación rectal, notándose aumento de tamaño y pérdida de la lobulación (Galloway, 1964; Villar y col., 1987). En semen puede observarse presencia de pus (Roberts, 1979).

Se han descrito dos tipos de vesiculitis de acuerdo al examen microscópico: las que evidencian cambios predominantemente degenerativos a nivel epitelial y aquellas que presentan principalmente modificaciones del intersticio glandular (Galloway, 1964).

Otras alteraciones de menor significación registradas en las vesículas seminales han sido: quistes, concreciones, metaplasia, atrofia y presencia de corpúsculos basofílicos, asociados a cambios inflamatorios (Galloway, 1964; Bagshaw y Ladds, 1974 a).

1.6.5. Afecciones en otras glándulas anexas

Entre las anomalías congénitas más frecuentes se han citado casos de aplasia bulbouretral, melanosis, hipoplasia y fusión de las glándulas bulbouretrales y colículo seminal. (Bagshaw y Ladds, 1974 b).

Pequeñas estructuras quísticas localizadas entre las ampollas constituyen los denominados remanentes de los ductos paramesonéfricos o útero masculino (Sponenberg, 1985). Estas estructuras varían en número, tamaño, forma y localización. La caracterización histológica de dichos quistes es similar a la observada en un útero joven. (Bagshaw y Ladds, 1974 a).

Según Bagshaw y Ladds (1974 a) los procesos inflamatorios en estas glándulas son menos frecuentes que en las vesículas seminales. Los mismos autores (1974 b) registraron un 3,8% de ampullitis en 521 toros faenados, mientras que los porcentajes para prostatitis y bulbouretritis fueron 0% y 0,2%, respectivamente. Sin embargo, para Ball y col. (1968) el porcentaje de toros afectados por ampullitis fue mayor que el registrado para los casos de vesiculitis (58% versus 49%).

Los microorganismos aislados en casos de lesiones inflamatorias de testículos, epidídimos y vesículas seminales, también han sido recuperados en los casos de ampullitis (Bagshaw y Ladds, 1974 a; Roberts, 1979). La ampulli

tis y prostatitis son difíciles de diagnosticar en el toro por palpación rectal, pero en algunos casos puede detectarse pus en semen (Roberts, 1979).

Formaciones quísticas, concreciones("corpora amilacea") y metaplasia han sido descritas en todas las glándulas sexuales accesorias (Bagshaw y Ladds, 1974.a).

2- OBJETIVOS

- 1) Realizar un estudio de las alteraciones anatomopatológicas macro y microscópicas halladas en órganos genitales de toros procedentes de matadero.
- 2) Determinar los agentes bacterianos presentes en dichas alteraciones.
- 3) Establecer la presencia de Mycoplasma spp, en vesículas seminales.
- 4) Efectuar un análisis serológico para detectar brucelosis y leptospirosis.
- 5) Tratar de establecer correlación entre los hallazgos patológicos, microbiológicos y serológicos.

3- MATERIALES Y METODOS

3.1. Animales

Se obtuvieron muestras para estudios microbiológicos y patológicos, correspondientes a los órganos genitales de 100 toros de frigorífico. En unos pocos no se trabajó con la totalidad de los genitales, debido a inconvenientes operativos durante la recolección en la playa de faena. El muestreo se realizó en el frigorífico San Telmo de la ciudad de Mar del Plata, que concentra toros preferentemente del Centro y Sudeste de la provincia de Buenos Aires. Los animales fueron clasificados en tres grupos etáreos (jóvenes, adultos y viejos) según determinación por cronometría dentaria. Así, en el primer grupo fueron incluidos toros de hasta 3 años; en el segundo, toros que tenían entre 4 y 6 años y en el tercero, animales de 7 o más años. Se llevaron registros de raza, procedencia y peso de medias.

3.2. Recolección de muestras

Los órganos muestreados fueron colocados en bolsas de polietileno estériles, identificadas convenientemente. El material fue refrigerado y se procesó dentro de las 3 horas post-mortem. Se extrajeron muestras de sangre para estudios serológicos.

3.3. Estudios microbiológicos

3.3.1. Brucelosis

3.3.1.1. Procesamiento bacteriológico

Se procesaron en primer lugar los órganos genitales, testículos, vesículas seminales, epidídimos y ganglios ilíacos internos de toros que presentaron anomalías macroscópicas y/o títulos reaccionantes \geq a 1/25 para la prueba rápida en placa.

Los órganos genitales de aquellos toros sin lesiones evidentes, pero

con serología positiva, se congelaron a -20°C para su posterior análisis bacteriológico. Solamente se consideraron como lesiones asociadas a títulos aglutinantes, aquellas de tipo inflamatorio, macro y microscópicas (granulomatosas e intersticiales) que estuvieron presentes en alguno de los órganos citados. En unos pocos casos de toros con lesiones de este tipo, pero con serología negativa, también se procesaron los órganos, de modo similar al expuesto para los toros con títulos. Se procesaron en total 294 muestras.

Se extrajo asépticamente una muestra de todo órgano genital con lesión y del ganglio correspondiente, para inocular placas con medio agar sangre bovino al 7% (Apéndice 1) y agar triptosa suero, con y sin antibióticos (Apéndice 2 y Apéndice 3) (Alton y Jones, 1964).

Las placas se incubaron en estufa a 37°C en una atmósfera con 10% de CO_2 hasta 10 días. Para ello se utilizaron jarras para anaerobiosis de tipo Brewer y desecadores. Se empleó una solución indicadora (Apéndice 4) para control del porcentaje de CO_2 incorporado, citada por Alton y Jones (1964).

La lectura del material sembrado se realizó al 3º y 10º día utilizándose como control positivo una cepa de Br. abortus biotipo 2.

Las colonias que macroscópicamente presentaron una apariencia translúcida, forma circular, bordes lisos y 2 o 3 mm de diámetro, se seleccionaron para ser examinadas por el método de la luz reflejada oblicuamente, bajo una lupa estereoscópica (Alton y Jones, 1964). Posteriormente se realizaron tinciones de Gram y Ziehl-Neelsen modificada para Brucella (Apéndice 5) (Carter, 1979). Para determinar la fase lisa o rugosa de dichas colonias se efectuó la prueba de la acriflavina (Apéndice 6) (Alton y Jones, 1964). Los microorganismos se enfrentaron con antisueros monoespecíficos provistos por el Centro Panamericano de Zoonosis, (CEPANZO).

Las cepas aisladas en este relevamiento se repicaron a medio agar Brucella-suero (Apéndice 7) para ser enviadas al Centro Panamericano de Zoonosis, a fin de ser biotipificadas.

Los órganos genitales de animales sin lesiones macroscópicas se maceraron en forma estéril por separado, en una proporción 3/10 con agua peptonada (Apéndice 8) (Centro Panamericano de Zoonosis, 1971). Se inoculó 0,1 ml de cada macerado en los medios agar triptosa-suero con y sin antibióticos. La incubación, lectura de las placas e identificación de las colonias sospechosas, fueron realizadas de modo similar al descrito anteriormente.

Las muestras (80) de los genitales de toros que resultaron al cultivo negativas o contaminadas, fueron inoculadas en cobayos de 200-250 grs. Se utilizaron por cada toro analizado 2 cobayos; 1 de éstos fue inoculado con un macerado de ganglios y el otro con un macerado constituido por el total de órganos genitales. Se empleó la vía subcutánea a razón de 2 ml por animal.

Los animales inoculados fueron alojados en jaulas, alimentados con una ración de un concentrado comercial y verdeo.

Al cabo de 45 días, los cobayos fueron sangrados por punción cardíaca y sacrificados previa anestesia con éter. Se extrajo el suero sanguíneo y se realizaron las pruebas de seroglutinación en placa y tubo. En el momento de la necropsia se les extrajo asépticamente el bazo. Luego se maceró este órgano con agua peptonada en una proporción 1/10, realizando la siembra en placas de agar triptosa sin antibióticos por duplicado.

La incubación y lectura se efectuaron de modo similar que para los cultivos directos. En todas las placas sembradas se evaluó el grado de contaminación como bajo (1/3), medio (2/3) o alto (3/3), según la extensión de la superficie contaminada; así las muestras de órganos genitales y ganglios, se evaluaron sobre medio agar triptosa con y sin antibióticos y las muestras extraídas de cobayos sobre medio agar triptosa sin antibióticos.

3.3.2. Bacterias aerobias

Se procesaron para aislamiento de bacterias aerobias sólo aquellos órganos genitales que presentaban lesiones macroscópicas.

Las muestras de testículos, epidídimos y vesículas seminales se inocularon en placas con medio agar sangre bovino al 7% y agar Mc Conkey (Apéndice 9).

Se utilizó caldo tetrionato (Apéndice 10) como enriquecimiento previo para aislamiento de enterobacterias, efectuándose repiques a agar Salmonella-Shigella (Apéndice 11) a las 24hs. y al 3º y 5º día.

Las placas con medio agar sangre se incubaron a 37°C hasta 72hs. Se efectuaron distintas pruebas bioquímicas para llegar a la identificación de la cepa aislada en cada caso (Buchanan y col., 1974; Cowan y Steel, 1979).

3.3.3. Micoplasmosis

3.3.3.1. Cepas de referencia

Se utilizaron cepas patrón liofilizadas de M. bovigenitalium (PG11), M. bovis y A. laidlawi enviadas por el Dr. Henning Ernp (Instituto de Microbiología Médica, Universidad de Aarhus, Dinamarca). Nos fueron remitidas en frascos ampolla por triplicado. Dichas cepas se mantuvieron refrigeradas a 4°C hasta su reconstitución.

Si bien el objetivo del trabajo fue buscar M. bovigenitalium , para lo cual fue solicitada la cepa de referencia PG 11, también se trabajó con cepas patrones de M. bovis y A. laidlawi, a los fines de adquirir entrenamiento en el cultivo de estos microorganismos.

3.3.3.2. Reconstitución de las cepas

La cepa de M. bovigenitalium fue reconstituída en medio N líquido y las cepas de M. bovis y A. laidlawi se reconstituyeron en medio B líquido (Apéndice 12 y Apéndice 13) (Freundt y col., 1979). Tubos tapa a rosca conteniendo 1,7 ml de caldo fueron sembrados en diluciones seriadas de hasta 10^{-5} e incubados a 37°C en jarras anaeróbicas con atmósfera húmeda , conteniendo 90% de N₂, 5% de O₂ y 5% de CO₂, durante 4 días. Se tomó la precaución de mantener flojas las tapas a rosca durante la incubación, para permitir la entrada de la mezcla gaseosa.

A partir del caldo se inoculó 0,01 ml en placas de Petri (55 mm de / diámetro) conteniendo medio sólido N o B según correspondiese (Apéndice 14 y Apéndice 15) distribuyéndose el material mediante espátula de Drigalsky . Para asegurar una buena solidificación el porcentaje de agar incorporado a estos medios se incrementó del 1,4% (Freundt y col., 1979) al 2%. Las placas se incubaron en la misma forma que los caldos. La observación de las placas se realizó por su fondo, a través del agar, con una lupa estereoscópica a 20 - 30 aumentos. Los cultivos se examinaron a partir de la 96 horas de siembra, revisándose cada 48 horas, hasta completar un período de 14 días.

Se realizó la tinción de Dienes, (Apéndice 16) (Carter, 1979) inundando las placas sembradas con el colorante y dejándolo actuar por espacio de 5 minutos. Luego se eliminó el sobrenadante y las mismas se incubaron a 37°C durante 30 minutos. La observación se realizó con lupa estereoscópica.

3.3.3.3. Obtención y procesamiento de las muestras

Se obtuvieron vesículas seminales de 100 toros de faena. Las 200 glándulas fueron prolijamente disecadas y un trozo de cada una fue depositado en bolsas de polietileno estériles para su posterior marcha microbiológica.

Estas muestras permanecieron congeladas a -70°C hasta su procesamiento. En algunos casos, debido a fallas de funcionamiento del equipo de congelación, éstas debieron conservarse por cortos períodos a -20°C .

Se utilizaron medios de cultivo líquidos y sólidos, según Freundt y col. (1979). Las muestras se maceraron en matraces conteniendo solución de Hanks (Apéndice 17) y a partir del macerado original, se realizaron diluciones 10^{-1} hasta 10^{-5} , en medio N, distribuyendo el material en tubos tapa a rosca.

Los cultivos fueron incubados en desecadores o jarras anaeróbicas de tipo Brewer , en cámara húmeda durante 48 a 72hs. a 37°C , con diferentes mezclas gaseosas: 1) 90% de N_2 , 5% de CO_2 , y 5% de O_2 ; 2) 95% de H_2 y 5% de CO_2 . Dichos caldos fueron inoculados , a razón de 0,01ml , a placas conteniendo medio sólido N, e incubados durante 14 días a 37°C , con las distintas atmósferas citadas. La observación de las placas se realizó, mediante lupa estereoscópica a 20 y 30 aumentos a partir de las 96 horas de incubación, revisándose las mismas cada 48hs., hasta el día 14. Para facilitar la observación de las colonias, se utilizó la coloración de Dienes (Carter, 1979).

3.4. Estudios serológicos

Se realizaron extracciones de sangre de cada uno de los toros en el momento del sacrificio. La sangre fue recogida en tubos de vidrio con tapón de goma. Una de las muestras no pudo procesarse por ruptura accidental del tubo que la contenía, de modo que se contó con 99, en lugar de las 100 programadas. Las mismas fueron centrifugadas a 2000 r.p.m. durante 15 minutos.

Los sueros obtenidos, libres de hemólisis, fueron separados y colocados en tubos de plástico, congelándose a -20°C hasta su procesamiento. Las pruebas serológicas se efectuaron para detectar la presencia de anticuerpos contra brucelosis y leptospirosis.

Los sueros de aquellos toros que presentaron signos macroscópicos de balanitis fueron enviados al Dr. A. Schudel, Dpto. de Virología de INTA Castelar, a fines de investigar la presencia de anticuerpos a IBR.

3.4.1. Brucelosis

3.4.1.1. Prueba rápida en placa

Esta prueba se efectuó según la metodología descrita por el CEPANZO (1968). Para ello se utilizó un aglutinoscopio. Se empleó un antígeno estandarizado provisto por el CEPANZO.

Se tomaron mediante pipeta graduada 0,08; 0,04; 0,02; 0,01 y 0,005 ml de suero que fueron depositados en ese orden en los casilleros de una misma hilera de la plancha de vidrio.

Una gota de antígeno se colocó mediante gotero calibrado a 0,03 ml. De esta forma se lograron diluciones de 1/25, 1/50, 1/100, 1/200 y 1/400. La mezcla del suero con el antígeno se efectuó con un palillo de madera, realizando movimientos circulares y en orden decreciente, de la mayor a la menor dilución.

Las muestras fueron homogeneizadas, repitiendo la operación a los 4 minutos.

Pasados 8 minutos de incubación, se realizó la lectura.

Las aglutinaciones se consideraron: 1) completas (positivas) cuando el líquido de la mezcla suero-antígeno apareció claro y una agitación suave no destruyó los grumos, 2) incompletas cuando el mismo líquido no presentó nitidez a la observación y al agitar no se destruyeron los grumos y 3) negativas cuando se observó turbidez en la mezcla antígeno-suero y ausencia de grumos al agitar suavemente.

Se consideraron como reactores aquellos animales que presentaron títulos aglutinantes a partir de la dilución 1/25.

3.4.1.2. Prueba lenta en tubo

La prueba fue realizada de acuerdo con lo descrito por el CEPANZO (1968).

Se emplearon tubos de vidrio de 10 mm x 85 mm, los que fueron colocados en gradillas de madera.

Los sueros fueron distribuidos en los tubos mediante pipetas de Bang en cantidades de 0,08; 0,04; 0,02 y 0,01 ml y el antígeno estandarizado, provisto por el Cepanzo, mediante una jeringa dosificadora automática a razón de 2 ml por tubo. Por lo tanto las diluciones obtenidas fueron de 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200 respectivamente.

En los casos en que fue necesaria la obtención de títulos finales, se utilizó suero y antígeno a doble concentración para el primer tubo de la serie y en los restantes la concentración habitual. La incubación se realizó a 37°C, durante 48hs. Junto con los sueros problema se incubó el antígeno para controlar autoaglutinación. La lectura se realizó a trasluz, sobre un fondo oscuro.

El grado de aglutinación se interpretó de la misma forma que para el caso de la prueba rápida en placa.

También en este caso se registraron como reaccionantes los toros que presentaron aglutinación a la dilución 1/25.

3.4.1.3. Prueba del 2-Mercaptoetanol

Se utilizó el mismo antígeno estandarizado que fue empleado en la prueba lenta en tubo; la diferencia es que dicho antígeno se diluyó al 2%. La solución del 2-Mercaptoetanol (0,1 M) se obtuvo agregando 0,78 ml de este compuesto a 99,22 ml de solución fisiológica al 0,85% (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982).

La técnica de procesamiento para efectuar esta prueba es muy similar a la expuesta para la prueba lenta, solo que a diferencia de la anterior, aquí se incluyeron:

1.- Un suero control conocido, con aglutinación positiva a una dilución 1/200 para la prueba lenta en tubo y aglutinación negativa para el 2 - Mercaptoetanol. Este suero con un alto contenido de aglutininas anti - Brucella del tipo inmunoglobulina M y ausencia de Inmunoglobulina G, fue provisto por el Centro Panamericano de Zoonosis.

2.- Sueros testigos positivos con título conocido y sueros

testigos negativos.

La incubación, lectura e interpretación se realizaron de modo similar a la prueba lenta en tubo.

3.4.1.4. Prueba del rivanol

Esta prueba se efectuó de acuerdo con la metodología descrita por el CEPANZO (1982).

Los sueros a analizar y la solución de rivanol al 1% fueron colocados en tubos de 13 x 100 mm, en cantidades iguales de 0,4 ml, y mantenidos a temperatura ambiente durante media hora. Estas mezclas se centrifugaron a 2000 r.p.m. durante 5 a 10 minutos. El sobrenadante fue utilizado para realizar una prueba similar a la de Huddlesson, sobre una placa de vidrio, descargándose 0,08; 0,04; 0,02 y 0,01 ml del mismo con una pipeta de Bang. Luego se agregó 0,03 ml de antígeno rivanol a cada cantidad de líquido sobrenadante, y se mezcló con un palillo de madera de la mayor a la menor dilución. Posteriormente se inclinó la placa imprimiéndole un movimiento circular y se la hizo girar 4 veces. A los 6 minutos se repitió esta operación y a los 12 minutos se efectuó la lectura. La interpretación de la presencia o no de aglutinación fue realizada tomando como base la prueba de Huddlesson.

3.4.1.5. Prueba de la tarjeta

El antígeno standarizado empleado en esta prueba fue como en los casos anteriores provisto por el CEPANZO.

Se depositó mediante pipeta graduada 0,03 ml de suero en una de las divisiones de una tarjeta de tipo Brewer. La cantidad de antígeno utilizado fue de 0,03 ml. Se efectuó la mezcla del suero y el antígeno con palillo de madera. Cada tarjeta con las 10 muestras se colocó en un rotador automático por espacio de 4 minutos. Esta prueba fue considerada positiva cuando se observó aglutinación, manifestada por la presencia de grupos (Casas Olascoaga, 1976; Centro Panamericano de Zoonosis, 1982).

3.4.1.6 Fijación de Complemento

Si bien en el proyecto original no se había previsto la realización de esta prueba, los sueros fueron remitidos al CEPANZO con el fin de efectuar estudios comparativos entre dicha prueba y las citadas previamente.

Cada suero fue tratado con el agregado de 0,01 ml de Azida de sodio al 10% (para evitar contaminación). Las muestras fueron evaluadas mediante el método en frío que está basado en la unidad hemolítica 50%. Se consideraron como reactores los toros con títulos 1:10 o superiores (Szyfres, 1982).

3.4.2. Leptospirosis

Se utilizó la técnica de microaglutinación-lisis descripta por el Centro Panamericano de Zoonosis (1985). Los antígenos empleados en esta prueba eran serovares vivos de Leptospira interrogans cultivados en medio de Korthof (Apéndice 18). Las cepas utilizadas fueron las siguientes: serovar australis, cepa Ballico; serovar autumnalis, cepa Akiyami A; serovar ballum, cepa Castellon 3, serovar bataviae, cepa Van Tienen; serovar canicola, cepa Hond Utrecht; serovar hardjo, cepa Hardjoprajitno; serovar icterohaemorrhagiae, cepa RGA; serovar pomona, cepa Pomona; serovar pyrogenes, cepa Salinem; serovar tarassovi, cepa Perepelicin y serovar wolffi, cepa 3705. Los sueros fueron diluidos en solución tamponada salina fosfatada, (ph 7,2) hasta una dilución de 1/100. Las muestras que presentaron una aglutinación del 50% del campo se diluyeron nuevamente, a fin de obtener su título final. Se usaron volúmenes iguales de suero diluido y antígeno (0,2 ml). Las lecturas se realizaron con un microscopio de campo oscuro después de una incubación a 37°C durante 2 hs. Se consideraron como positivas las reacciones que tenían el 50% o más leptospiras aglutinadas. Cabe aclarar que si bien el Centro Panamericano de Zoonosis (1985) toma como referencia la dilución final 1/100, la mayoría de los trabajos efectuados en bovinos de Argentina, considera títulos a partir de 1/200 (Cacchione y col., 1980). Es por este motivo que se optó por esta última dilución.

3.5. Estudios morfológicos

3.5.1. Anomalías macroscópicas

Los testículos, epidídimos, vesículas seminales, penes y prepucios de los 100 toros, fueron extraídos inmediatamente de sacrificados los animales. Se examinaron cuidadosamente el prepucio y escroto, antes de proceder a su apertura. Los testículos, epidídimos y vesículas seminales fueron analizados macroscópicamente después de una prolija disección, constatando la presencia de anomalías. Se registraron las siguientes medidas: perímetro escrotal, largo y ancho de testículos, así como el peso

de éstos y de los epidídimos. Las vesículas seminales también se pesaron y se midió el largo de las mismas. Se tomaron fotografías de las principales lesiones macroscópicas encontradas.

3.5.2. Estudios histopatológicos

Se programó la extracción de muestras de cada testículo, vesícula seminal y epidídimo, correspondiente a cada uno de los 100 toros, o sea 6 muestras por animal. Por razones operativas, no se pudieron tomar en todos los casos las 6 muestras respectivas. Sólo se tomaron muestras de prepucio y pene en aquellos toros con lesiones macroscópicas. Los órganos fueron disecados y depositados en frascos conteniendo líquido de Bouin's, donde permanecieron por espacio de 24 hs.; luego fueron transferidos a alcohol 70°. Se realizaron cortes con micrótopo rotatorio, a 5 μ . Se utilizó como coloración de rutina hematoxilina-eosina. También se efectuaron tinciones especiales como Giemsa, Von Kossa y Mallory (Mc Manus y Mowry, 1968).

Las zonas de donde se extrajeron las muestras en cada uno de los órganos anteriormente citados, fueron establecidos como sigue: para pene y prepucio se tomó la muestra del lugar de la lesión; para los testículos se extrajo la muestra de un área comprendida entre el polo inferior y la parte media de los mismos. Para el caso de las vesículas seminales, se seleccionó como zona de muestreo, la porción media de dichas glándulas, considerando como límite superior el extremo ciego y como límite inferior la unión con la uretra.

Todas las muestras de epidídimos fueron extraídas de la región de la cola. En los casos en que hubo lesión macroscópica, también se tomaron muestras de cabeza y cuerpo. Se fotografiaron las lesiones microscópicas de mayor significación.

3.6. Análisis Estadístico

Se realizó por los métodos de ji cuadrado y correlación simple.

4 - RESULTADOS

4.1. Animales

Se detallan aquí los resultados obtenidos sobre estudios microbiológicos y patológicos en genitales de toros procedentes del frigorífico San Telmo, Mar del Plata, que concentra preferentemente hacienda del Sudeste de la Pcia. de Bs. As.

El cuadro Nº 2 muestra el número de toros agrupados por raza sobre el total de animales incluidos en este relevamiento.

En el cuadro Nº 3 (pág. 90) se detalla el porcentaje de toros evaluados pertenecientes a los distintos partidos de la provincia de Buenos Aires.

En el cuadro Nº 4 (pág. 90) se menciona el número de toros evaluados agrupados según edad.

Debido a que la elección de los toros se realizó al azar, por razones operativas, el porcentaje examinado para cada categoría fue diferente.

CUADRO Nº 2: Número de toros, agrupados según raza, sobre un total de 100 animales.

Razas	Número
Aberdeen Angus	78
Hereford	10
Cruzas	5
Shorthorn	4
Criolla	2
Charolais	1

CUADRO N° 3 : Porcentaje de toros evaluados, según procedencia
(Partido de la Pcia. de Bs. As.).

Procedencia (Partidos)	Porcentaje (%)
Balcarce	18
Gral. Alvarado	18
González Chaves	10
Gral. Guido	10
Cnel. Dorrego	9
Bolívar	7
Lobería	6
Necochee	6
Bahía Blanca	5
Chascomús	5
Tres Arroyos	4
Mar Chiquite	2

CUADRO N° 4 : Número de toros agrupados por edad, sobre un total de 100
animales evaluados.

Edad	hasta 3 años	4-6 años	7 años o >
Número de toros	12	35	53

4.2. ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

4.2.1. Brucelosis

Por la prueba de aglutinación en placa se detectó un 35,3% de toros reactivos; por la prueba lenta en tubo un 36,4% y por ambas pruebas un 42%. De estos 42 animales, 15 tenían lesiones de naturaleza inflamatoria crónica (11 macroscópicas y 4 microscópicas); se logró aislamiento por siembra directa sólo en 2 de ellos, con signos manifiestos de epididimitis en un caso, y vesiculitis y epididimitis en el otro. Los resultados bacteriológicos para 7 toros con lesiones del mismo tipo, macro y microscópicas para todos ellos, pero sin título serológico, fueron negativos.

Las dos cepas aisladas fueron tipificadas como Brucella abortus biotipo 1 y Brucella abortus biotipo 1, con características de cepa 19. Las colonias aisladas en ambos casos tuvieron una apariencia translúcida, un tamaño de 2-3 mm y bordes lisos.

A trasluz presentaron un tono azulado sobre el medio agar triptosa suero. Ambas cepas crecieron con 10% de CO₂; la cepa con características de cepa 19 lo hizo también en aerobiosis. Los 2 aislamientos se encontraban en fase lisa, determinada por la prueba de la acriflavina. De los frotis efectuados a partir de colonias sospechosas, resultaron microorganismos Gram negativos, pequeños, de forma cocobacilar, sin agrupación definida y positivos a la coloración de Ziehl-Neelsen modificada.

Enfrentadas estas colonias con un suero anti-Brucella, se observó aglutinación. En el cuadro N^o 5 (pág. 92) se detallan las pruebas efectuadas para biotipificar las cepas aisladas.

El cuadro N^o 6 (pág. 93) muestra los resultados correspondientes a los aislamientos de Br. abortus, pruebas serológicas y anomalías genitales en 15 toros con lesiones macro y microscópicas. Como puede verse sólo 3 de 15 animales, los toros N^o 38, 66 y 67 presentaron bajos títulos serológicos ($<$ a 1/50) y fueron detectados solamente por seroaglutinación a pesar de haber presentado lesiones. El resto de los toros mostró títulos superiores ($>$ a 1/50) y fue detectado por más de 2 pruebas serológicas efectuadas.

Los órganos genitales y ganglios correspondientes a 20 toros sin lesión-

nes pero con serología positiva resultaron negativos a los cultivos directos. Un total de 80 cobayos fueron inoculados con el material de los animales de donde no se logró cultivo directo (40 toros con títulos serológicos). En ningún caso se pudo aislar la bacteria de los bazos de estos cobayos. Tampoco se detectaron anticuerpos en los sueros sanguíneos de los mismos.

En el cuadro Nº 7 (pág. 98) se detallan los resultados obtenidos sobre la evaluación del grado de contaminación en placas sembradas con muestras de órganos genitales y ganglios, expresados en número y porcentaje. En el mismo se observa que solo un 13,2% de las placas sembradas en el agar triptosa suero con antibióticos, tuvo un grado de contaminación de 2/3 a 3/3, mientras que en el medio sin antibióticos dicho porcentaje se elevó a 44,6%.

Los contaminantes más comúnmente encontrados fueron bacterias del género Bacillus sp. y en algunas oportunidades, se observó crecimiento de hongos, en el medio sin antibióticos. Con respecto a las placas sembradas con muestras de bazo extraído de los cobayos inoculados, se logró que en el 90% de los casos el grado de contaminación alcanzado, no excediera de 1/3. (Cuadro Nº 8, pág. 98).

CUADRO Nº 5 : PRUEBAS EFECTUADAS PARA BIOTIPIFICAR LAS CEPAS AISLADAS (Centro Panamericano de Zoonosis)

CEPAS	Requerimiento de CO ₂	Requerimiento de Suero	TIONINA			FUCSINA			Violeta de Metilo	Pironina	Safraína	Verde de Metilazul	A. Tionina	Eritritol 1 mg/ml	Penicilina 5 U.I./ml	Medio Base	Fase Colonie	PRODUCCION DE SH ₂ EN DIAS					UREASA 15 a 180 minutos	SUEROS MONOESPECIFICOS		Sensibilidad Fago Tb		RESULTADOS		
			1/25	1/50	1/100	1/25	1/50	1/100										1	2	3	4	5		A	M	1DCP	10 ⁴ DCP		B. abortus bio-tipo 1.	B. abortus bio-tipo 1. (cepa 19).
32	+	-	-	-	-	4	4	4	3	4	4	2	4	4	4	4	4	5	-	-	+++	+++	+++	-	+	+	+	+	B. abortus bio-tipo 1.	B. abortus bio-tipo 1. (cepa 19).
42	-	-	-	-	-	4	4	4	1	4	4	1	-	-	-	4	4	5	-	-	+++	+++	+++	-	+	+	+	+	B. abortus bio-tipo 1. (cepa 19).	B. abortus bio-tipo 1. (cepa 19).

CUADRO Nº 6 : RESULTADOS DE AISLAMIENTO DE BRUCELLA ABORTUS, PRUEBAS SEROLOGICAS Y ANOMALIAS GENITALES EN TOROS FAENADOS*

Nº de Toro	Anomalías		Anomelías		Pruebas		F.C.	Cultivo
	Macroscópicas	Microscópicas	Rápide (Plece)	Lente (Tubo)	Tarjete 2M	Serológicas Rivenol		
2	T.I.: Disminuído de tamaño. Adherencias entre las capas visceral y perietal de la túnica vaginal. Focos purulentos.	T.I.: Orquitis granulomatosa.	1/200	1/200 I	+	1/200 I	+	(-)
9	No detectadas	V.D.: Presencia de infiltrado mononuclear intersticial y cuerpos basofílicos en la luz alveolar.	1/200	1/400 I	+	1/400 I	+	(-)
32	E.I.: Duro el tacto. E.D.: Cole aumentada de tamaño. Focos purulentos V.D.: Disminuído de tamaño. AMP.D y AMP.I: Aumentados de tamaño.	E.D. y E.I.: Epididimitis granulomatosa. V.D. y V.I.: Vesiculitis intersticial.	1/100 I	1/100	+	1/200 I	+	(+)(De EG y VD).
33	V.I.: Aspecto quístico. Con tenido purulento.	T.D. y E.D.: Infiltrado mononuclear intersticial. V.D. y V.I.: Vesiculitis intersticial.	1/50	1/100 I	+	1/100 I	-	(-)**

* Las referencias correspondientes a las abreviaturas que aparecen en este cuadro figuran al pie de la pág. 97.

.. / continuación cuadro Nº 6

Nº de Toro	Anomelíes Microscópicas	Anomelíes Microscópicas	Rápide (Plece)	Lente (Tubo)	Pruebas Serológicas		F.C.	Cultivo	
					Tarjeta 2M	Rivenol			
38	T.I.: Mineralización	T.I.: Orquitis intersticial V.D.: Vesiculitis intersticial	1/50 I	1/25	-	-	-	(-)	
41	No detectadas	V.D.: Vesiculitis intersticial.	1/100	1/50 I	+	-	-	(-)	
42	T.I.: Adherencias de la vaginal. Varicoceles. E.I.: Cola aumentada de tamaño y nó- dulos al tacto. Contenido puru- lento y focos caseosos.	T.D. y T.I.: Orquitis necrótica. E.D. y E.I.: Epididi- mitis granulome- tosa. V.D. y V.I.: Vesiculi- tis intersticial.	1/200 I	1/100 I	+	1/100	1/100 I	+	(+)(De E.D.)
4E	T.I. y T.D.: Consisten- eumentada. V.D. y AMP.D. Aumentadas de tamaño.	T.I.: Infiltrado mono- nuclear intersti- cial. V.D.: Vesic- ulitis intersti- cial.	1/100	1/100 I	+	1/100 I	1/100 I	+	(-)

..// continuación cuadro Nº 6

Nº de Toro	Anomalías		Anomalías Microscópicas		Anomalías Microscópicas		Pruebas Serológicas		F.C.	Cultivo
	Macroscópicas		Rápida (Placa)	Lenta (Tubo)	Tarjeta	2M	Rivonal			
61	T.I.: Aumentado de tamaño	V.I.: Vesiculitis intersticial.	1/200I	1/200. I	+	1/200 I	1/200 I	-	-	(-)
64	E.D.: Aumentado de tamaño.Contenido purulento.-E.I.: Adherencias en la cola.V.D.:Dura el tacto.Con-tenido purulento	E.D.: Epididimitis granulomatosa. V.D. y V.I.: Vesiculitis intersticial.	1/50	1/50	+	1/200 I	1/100 I	+	-	(-)
66	V.D. y V.I.: Aumento de tamaño y fibrosis.	V.D. y V.I.: Infiltrado mononuclear intersticial y necrosis	1/25	1/50 I	-	-	-	-	-	(-)
67	No detectadas	T.D.: Infiltrado mononuclear intersticial. V.D. y V.I.: Vesiculitis intersticial	-	1/25	-	-	-	-	-	(-)

.. / continuación cuadro Nº 6

Nº de Torro	Anomalías Macroscópicas	Anomalías Microscópicas	Pruebas Serológicas.				F.C.	Cultivo	
			Rápida (Placa)	Lenta (Tubo)	Terjeta	2M			Rivenol
70	T.I.: Adherencias en el polo inferior. V.I.: Contenido purulento.	V.I.: Vesiculitis intersticial.	1/100	1/100	+	1/200. I	1/100	+	(-)
73	V.D. y V.I.: Aumento de tamaño y fibrosis.	V.D. y V.I.: Infiltrado mononuclear intersticial y necrosis.	1/100	1/50 I	+	1/25	1/ 25	+	(-)
75	T.I.: Adherencias. E.D.: Contenido purulento en la cole.E.I.: Cabeza aumentada de tamaño; adherencias. V.D. y V.I.: Aumento de espesor y falta de lobulación.	V.D. y V.I.: Vesiculitis intersticial.T.D.: Orquitis.E.D. y E.I.: Epididimitis granulomatosa.	1/100	1/100. I	+	1/100. I	1/100 I	+	(-)

T.I.: Testículo izquierdo

T.D.: Testículo derecho

V.I.: Vesícula seminal izquierda

V.D.: Vesícula seminal derecha

E.I.: Epidídimo izquierdo

E.D.: Epidídimo derecho

AMP.I: Ampolla izquierda

AMP.D: Ampolla derecha

2 M. : Prueba del 2 Mercaptoetanol

F.C. : Fijación de Complemento

** : Se aisló *Corynebacterium bovis*

Cuadro N° 7: Grado de contaminación, expresado en número y porcentaje, de placas sembradas en agar triptosa suero con y sin antibióticos.

Grado de Contaminación	s/c.*		1/3		2/3		3/3	
Medio empleado	s/a**	c/a***	s/a	c/a	s/a	c/a	s/a	c/a
Número de Placas	88	161	75	94	69	23	62	16
Porcentajes	(29,9)	(54,7)	(25,5)	(28,5)	(23,5)	(7,8)	(21,1)	(5,4)

* Sin contaminación

** Medio agar triptosa-suero sin antibióticos

*** Medio agar triptosa-suero con antibióticos

Cuadro N° 8 : Grado de contaminación, expresado en número y porcentaje, de placas sembradas en agar triptosa suero sin antibióticos.

Grado de contaminación	s/c*	1/3	2/3	3/3
Número de placas	108	37	8	7
Porcentaje (%)	67,5	23,1	5	4,4

* Sin contaminación.

4.2.2. Bacterias aerobias

Se procesaron para aislamiento de bacterias aerobias 41 muestras de órganos genitales, correspondientes a 20 toros con lesiones macroscópicas de aspecto inflamatorio, tales como balanitis, vesiculitis, epididimitis y orquitis, y a 8 toros con mineralización testicular.

En un caso diagnosticado como vesiculitis se aisló Corynebacterium bovis; para llegar a su identificación se efectuaron las siguientes pruebas bioquímicas: prueba de catalasa, prueba de oxidasa, siembra en los medios SIM, Kligler, urea, gelatina, Hugh-Leifsson, nitratos y fermentación de varios hidratos de carbono tales como glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, trealosa, manitol, salicina y xilosa.

En un toro se aisló Br. abortus en condiciones aeróbicas y microaerófilas, debido a que la cepa aislada fue identificada como Br. abortus biotipo 1, con características de cepa 19.

En dos de las muestras sembradas de epidídimo y vesícula seminal, pertenecientes a un mismo toro, el resultado del cultivo fue negativo en aerobiosis, ya que se aisló Br. abortus biotipo 1 de ambos órganos. Las 38 muestras restantes fueron negativas al cultivo de aerobios.

4.2.3. Micoplasmosis

No se obtuvieron aislamientos en ninguna de las muestras procesadas.

Todas las cepas de referencia crecieron en los medios N o B, líquidos y sólidos. No obstante lo antedicho, algunos cultivos de los frascos ampolla recibidos del exterior, crecieron bien inicialmente, pero otros perdieron viabilidad en los subcultivos.

Las colonias de mycoplasmas se tiñeron de azul oscuro en su centro y azul claro en el borde, manteniéndose la coloración por un tiempo superior a los 30 minutos.

Las fotos N° 1 y N° 2 muestran colonias de Mycoplasma bovis genitalium, cepa de referencia PG 11, bajo observación con lupa estereoscópica.

4.3. Estudios Serológicos

4.3.1. Brucelosis

Sobre un total de 99 sueros procesados, se observó que considerando los títulos \geq a 1/25, un 35,3% de los toros resultó reaccionante a la prueba rápida en placa, un 36,4% lo hizo a la prueba lenta en tubo a la misma dilución, y un 42% reaccionó para ambas pruebas.

El cuadro Nº 25 (pág.102) muestra la cantidad de toros reactivos (expresada en número y porcentaje) a las distintas pruebas serológicas efectuadas. El mayor número de reactivos fue detectado por las pruebas de seroaglutinación, mientras que con la prueba de la tarjeta, 2 mercaptoetanol, rivanol y fijación de complemento se obtuvieron porcentajes del 20,2%; 17,2%; 16,1% y 15,1% respectivamente.

El cuadro Nº 26 (pág.102) detalla el número y porcentaje de toros reactivos a diferentes pruebas serológicas, agrupados por edad. En el grupo de toros jóvenes es donde aparece la mayor cantidad de reactivos a todas las pruebas.

El cuadro Nº 27 (pág. 103) muestra el número de toros reactivos a la prueba de seroaglutinación en placa, clasificados de acuerdo a la resolución Nº 73 de SENASA (1982), en comparación con otras pruebas serológicas. En el mismo se observa que 71 animales resultaron negativos a la prueba en placa, mientras que 12 fueron positivos con títulos aglutinantes \geq a 1/100.

De los 64 toros que no presentaron títulos serológicos a la prueba rápida en placa, 7 lo hicieron a la prueba lenta en tubo (con títulos de hasta 1/50), 2 al 2 mercaptoetanol (título de 1/25), 1 a la prueba de rivanol (título de 1/25) y 1 a la prueba de fijación de complemento (título de 1/20).

Para títulos considerados sospechosos (1/50 incompleto hasta 1/100 incompleto) los resultados se aproximan bastante al comparar la prueba rápida y la prueba lenta, observándose también un número relativamente alto (9/16) de animales detectados por la prueba de la tarjeta.

Todos los toros reactivos a esta última prueba (en total 20) tenían títulos aglutinantes \geq a 1/50 para la prueba rápida en placa. De los 15 toros positivos a la fijación de complemento, 14 (93,3%) reaccionaron a las pruebas de aglutinación y tarjeta.

Para títulos considerados positivos (\geq a 1/100), el número de reactivos coincidió en todas las pruebas, con excepción de un solo caso, que fue positivo a las pruebas de seroaglutinación y negativo a las pruebas complementarias.

De las muestras de los toros reactivos que se procesaron bacteriológicamente, se aisló Brucella abortus en 2 de ellos, cuyos títulos para una u otra prueba de seroaglutinación era \geq a 1/100, siendo positivos también al resto de las pruebas.

El cuadro N° 28 (pág. 103) muestra los resultados comparativos entre presencia de lesiones y títulos aglutinantes \geq a 1/25 (por Huddlesson), de 99 toros analizados. Así, el 68% (15/22) de los animales que tenían lesiones inflamatorias (macro y/o microscópicas) en sus órganos genitales presentó aglutininas brucélicas en suero, mientras que en el 32% restante (7/22) no se detectaron aglutininas, pero se observaron lesiones genitales. De estos 15 animales, 13 presentaron títulos \geq a 1/50 y sólo 2, títulos de 1/25. En ningún caso se pudo establecer correlación entre el nivel de anticuerpos alcanzados, y los grados de lesión registrados para las lesiones detectadas en testículos, vesículas seminales y epidídimos.

CUADRO Nº 25 : Número y porcentaje de toros reactivos a distintas pruebas serológicas.

Pruebas serológicas	Títulos considerados	Número de toros reactivos	Porcentaje (%)
Aglutinación en placa	$\geq 1/25$	35	35,3
Aglutinación en tubo	$\geq 1/25$	36	36,4
2 - Mercaptoetanol	$\geq 1/25$	17	17,2
Rivanol	$\geq 1/25$	16	16,1
Prueba de la tarjeta		20	20,2
Fijación de complemento	$\geq 1/10$	15	15,1

CUADRO Nº 26 : Número y porcentaje de toros reactivos a las distintas pruebas serológicas, agrupados por edad.

Pruebas Serológicas	Grupo 1 n = 13 (hasta 3 años)	Grupo 2 n = 33 (4-6 años)	Grupo 3 n = 53 (7 años o \geq)
Aglutinación en placa	10 (76,9%)	11 (33,3%)	14 (26,4%)
Prueba lenta en tubo	10 (76,9%)	9 (27,3%)	17 (32,1%)
2 - Mercaptoetanol	6 (46,1%)	4 (12,1%)	7 (13,2%)
Rivanol	6 (46,1%)	5 (15,1%)	5 (9,4%)
Prueba de la tarjeta	8 (61,5%)	7 (21,2%)	5 (9,4%)
Fijación de complemento	5 (38,5%)	4 (12,1%)	6 (11,3%)

n = Número de animales en cada grupo.

CUADRO N° 27: Número de toros reactivos (n) a la prueba rápida en comparación con otras pruebas serológicas.

Prueba Rápida			Otras pruebas serológicas				
			Prueba lenta	2-Merceptoetanol	Rivanol	Tarjets	FC**
Interpretación de Títulos	Dilución	n	n	n	n	n	n
Negativos	-	64	7	2	1	-	1
	1/25	7	4	-	-	-	-
Sospechosos	1/50 I* hasta 1/100I	16	14	4	4	9	3
Positivos.	\geq 1/100	12	12	11	11	11	11

* Reacción incompleta.

** Fijación de complemento.

CUADRO N° 28 : Resultados comparativos entre presencia de lesiones y títulos aglutinantes (\geq a 1/25) para un total de 99 toros analizados.

Observación macro y/c microscópica	Número de toros analizados	Número de toros reactivos	Número de toros no reactivos
s/1*	77	27	53
c/1**	22	15	7

* sin lesiones de tipo inflamatorio

** con lesiones de tipo inflamatorio

4.3.2. Leptospirosis

El examen serológico de los 99 sueros testados demostró que 81 de ellos tenían títulos \geq a 1/200 y 18 fueron negativos.

El cuadro N° 29 (pág. 105) muestra la distribución de los serovares más frecuentes de Leptospira interrogans sobre las 99 muestras analizadas, con títulos \geq a 1/200. Como puede observarse, predominaron aquellos títulos que oscilaron entre 1/400 hasta 1/3200 (59/80 muestras consideradas). Estas 80 muestras comprendían los serovares hardjo y wolffi del serogrupo Sejroe.

El cuadro N° 30 (pág. 105) muestra el número de toros reactivos a los serovares hardjo y wolffi sobre 99 muestras procesadas. Así, dentro del serogrupo Sejroe se observó un 32,3% de reactivos para el serovar hardjo, 2% para el serovar wolffi y 46,5% para ambos serovares con títulos \geq a 1/200. En la mayoría de los sueros analizados el título más alto correspondió al serovar hardjo, con excepción de 6 muestras; en 4 de ellas el título alcanzado fue mayor para el serovar wolffi y en otras 2 el nivel de anticuerpos fue el mismo para ambos serovares.

Las lesiones encontradas en 10 toros que tenían títulos altos (desde 1/6400 hasta 1/25600) fueron variables, detectándose casos de alteraciones degenerativas e infiltración mononuclear en testículos, vesículas seminales y/o epidídimos; aumento del tejido intersticial testicular, mineralización testicular y en una oportunidad orquitis granulomatosa.

Sobre el total de sueros analizados, una sola muestra fue reaccionante a un título de 1/1600 para el serovar pomona, registrándose asimismo un título superior para el serovar hardjo (1/3200), por lo cual se lo consideró reaccionante a este último serovar.

CUADRO N° 29 : Serovares más frecuentes de Leptospira interrogans sobre 99 muestras analizadas con títulos \geq a 1/200.

Serogrupos	Diluciones hasta					Total de sueros positivos	
	1/200	1/800	1/3200	1/12800	/25600	Nº	%
Serogrupo Sejroe*	11	37	22	8	2	80	80,8
Serogrupo Pyrogenes **	1					1	1

* Los antígenos del serogrupo Sejroe fueron hardjo y wolffi.

** El antígeno para el serogrupo Pyrogenes fue pyrogenes.

CUADRO N° 30: Número y porcentaje de toros reactivos a los serovares hardjo y wolffi del serogrupo Sejroe para un total de 99 muestras procesadas.

Serogrupo Sejroe	Número de toros reactivos	%
serovar <u>hardjo</u>	32	32,3
serovar <u>wolffi</u>	2	2
serovares <u>hardjo</u> y <u>wolffi</u>	46	46,5

4.4. ESTUDIOS MORFOLÓGICOS

4.4.1. Medidas y pesos para toros sin alteraciones patológicas

Se agruparon aquí aquellos toros cuyos órganos genitales no tenían lesiones macroscópicas que pudieran afectar su forma y tamaño. El perímetro escrotal aumentó en relación con la edad ($P < 0,05$ por χ^2 cuadrado), según se observa en el cuadro N° 9.

CUADRO N° 9 : Perímetro escrotal sobre 83 toros analizados, de acuerdo al agrupamiento por edad.

Grupo etáreo	Perímetro escrotal en cm		Número de toros
	\bar{x}^*	D.E.**	
Jóvenes	34,9	1,9	9
Adultos	35,2	3,5	29
Viejos	37,3	2,5	45

*: promedio

** : desvío estándar

Para el caso de los testículos se observaron pequeñas diferencias en el largo y ancho testicular entre los diferentes grupo etáreos, según se detalla en el cuadro N° 10 (pág.100).

CUADRO Nº 10 : Largo y ancho testicular para los diferentes grupos etáreos, sobre 52 toros analizados.

Grupo etáreo	Largo testicular en cm		Ancho testicular en cm		Número de toros
	\bar{x} *	D.E. **	\bar{x} *	D.E. **	
Jóvenes	13	1,6	7,1	0,8	9
Adultos	13,5	1,3	7,6	0,6	17
Viejos	13,7	1,4	7,5	0,7	26

*: promedio

** : desvío estándar.

Al comparar los pesos testiculares para las distintas categorías, las diferencias observadas fueron significativas ($P < 0,05$), según análisis estadístico por ji cuadrado; no se observó correlación entre las variables peso testicular y peso de res ($r = 0,14$). En el cuadro Nº 11 se detallan el peso testicular y el peso de res para las 3 categorías de toros.

CUADRO Nº 11 : Peso testicular total y peso de res para los diferentes grupos etáreos, sobre 52 toros analizados.

Grupo etáreo	Peso testicular total en g		Peso de res en kg		Número de toros
	\bar{x} *	D.E. **	\bar{x} *	D.E. **	
Jóvenes	617,6	102,4	294,6	48,7	9
Adultos	684,6	101,3	358,6	50,7	17
Viejos	779,8	190,9	331,8	50,8	26

*: promedio

** : desvío estándar

No existieron diferencias significativas entre los pesos epididimarios y la edad de los animales: tampoco se observó correlación entre el peso epididimario y el peso de res ($r:0,27$) (cuadro N° 12).

CUADRO N° 12 : Peso epididimario total y peso de res para los diferentes grupos etáreos, sobre 79 toros analizados.

Grupo etáreo	Peso epididimario total en g		Peso de res en kg		Número de toros
	\bar{x}^*	D.E.**	\bar{x}^*	D.E.**	
Jóvenes	73,2	10,5	352,2	32,2	5
Adultos	72,6	9	345	53,6	30
Viejos	78,6	12,6	338,6	53,1	44

*: promedio

** : desvío estándar

De modo similar a los testículos para las vesículas seminales, no hubo diferencias significativas en el largo de las mismas para las distintas categorías evaluadas (cuadro N° 13), pero en cambio sí se observaron diferencias significativas entre los pesos de las glándulas y los diferentes grupos etáreos ($P < 0,05$), según análisis estadístico por ji cuadrado; no se observó correlación entre los pesos de las vesículas y el peso de res ($r: - 0,005$) (cuadro N° 14, pág.109).

CUADRO N° 13 : Largo de vesículas seminales para los diferentes grupos etáreos, sobre 81 toros analizados.

Grupo etáreo	Largo de vesícula seminal en cm		Número de toros
	\bar{x}^*	D.E.**	
Jóvenes	9,9	1,5	6
Adultos	11,1	1,7	31
Viejos	11,7	1,7	44

*: promedio

** : desvío estándar

CUADRO N° 14 : Peso total de vesículas seminales y peso de res, para los diferentes grupos etéreos, sobre 81 toros analizados.

Grupo etéreo	Peso total de vesículas seminales en g		Peso de res en kg		Número de toros
	\bar{x}	D.E.**	\bar{x}	D.E.**	
Jóvenes	171,2	84,6	300,8	53,9	6
Adultos	131,2	51,8	350,2	59,9	31
Viejos	183,4	89,6	335	52,4	44

*: promedio

** : desvío estándar.

4.4.2. ALTERACIONES PATOLOGICAS

4.4.2.1. Estudios Macroscópicos

4.4.2.1.1. Escroto

Solamente cuatro animales sobre un total de 86 evaluados tenían afecciones escrotales (4,6%). En un animal se detectó pediculosis y en otro erosiones en la piel del escroto. En 2 toros se observaron nódulos pequeños de aproximadamente 2 cm x 1 cm y apariencia papilomatosa, localizados en la cara posterior, cerca del rafe escrotal.

4.4.2.1.2. Prepucio

Lesiones prepuciales fueron registradas en 4 animales sobre 98 revisados (4,1%). En 2 toros de raza Aberdeen Angus se diagnosticó prolapso prepucial. La afección estuvo acompañada en ambos casos por presencia de úlceras y exudado fibrinopurulento (foto Nº 3). Las úlceras con tendencia a confluir, se encontraron en número de 3 en un toro y 4 en el otro; las mismas tenían un tamaño que varió entre 2 cm x 1 cm y 3 cm x 2 cm. El orificio prepucial de estos animales estaba prácticamente obliterado, y por consiguiente se observó fimosis. El área circunscripta a dicho orificio presentaba un notable aumento de tamaño. Dicha área era dura a la palpación.

Sufusiones en la mucosa prepucial, se detectaron en un animal. Las mismas estaban distribuidas en un área de 4 x 4 cm, en vecindad del orificio prepucial.

Un toro presentó en las inmediaciones del fórnix, nódulos de apariencia papilomatosa, con morfología de clava y un tamaño de 2 cm y 0,5 cm y 3,5 cm x 0,8 cm. (Foto Nº4).

No se observaron afecciones en la categoría toros jóvenes.

4.4.2.1.3. Pene

En el cuadro Nº 15 (pág.112) se detallan las anomalías encontradas en pene, sobre 98 toros agrupados por edad.

Los toros que presentaron anomalías en pene fueron 16 (16,3%).

En 8 animales se constató balanitis, caracterizándose la lesión por presencia de vesículas de 1 a 2 mm de diámetro rodeadas por una zona congestiva. Estas vesículas estaban distribuidas tanto en la cara dorsal como en la cara ventral del pene, en los primeros 6 cm del mismo. No se observó presencia de exudado.

En ~~dos~~ oportunidades se detectaron remanentes de frenillo preucial. En uno de los animales dicho remanente consistió en una pequeña banda de tejido que pendía del glande, de 1,5 x 0,5 cm, mientras que en otro toro, se observó un apéndice con forma de espátula, de 1,8 x 1,5 cm, unido al rafe peneano (Fotos N^o 6 y N^o 7).

Nódulos de apariencia papilomatosa se observaron en el glande de 2 toros. En ambos casos los nódulos estaban localizados alrededor de la abertura uretral, eran sésiles, aplanados y medían entre 1 y 2,5 cm de longitud, y entre 0,4 y 0,7 cm de ancho.

Lesiones cicatrizales en la mucosa peneana manifestadas por pequeñas áreas deprimidas, rugosas, de tejido conectivo se registraron en dos de los penes examinados.

Un animal presentó una fístula uretral, 1 cm en caudal del extremo del glande. La medida de la fístula era de 1 x 0,5 cm y la misma estaba localizada en el trayecto del rafe peneano (Foto N^o 8).

Sufusiones de la mucosa distribuidas irregularmente en ambas caras del pene y ubicadas por detrás del glande, en un trayecto de aproximadamente 5 cm, fueron constatadas en un toro.

Se observaron mayor número de anomalías en toros viejos, resultando las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$, por ji cuadrado).

Aunque no se considera un hallazgo patológico debe mencionarse que en 9 toros de raza Aberdeen Angus, se registró presencia de melanina en la mucosa de sus glandes. El pigmento estaba distribuido en todos los casos en áreas circulares focales de aproximadamente 0,5 cm de diámetro.

CUADRO N.º 15: Anomalías macroscópicas y melanosis* encontradas en pene, sobre un total de 98 toros, agrupados por edad.

Anomalías Macroscópicas	N.º de toros afectados			Total	%
	hasta 3 años	4-6 años	7 años o >		
Balanitis	1	2	5	8	8,2
Remanentes de frenillo	1		1	2	2
Nódulos	1		1	2	2
Lesiones					
Cicatrizales			2	2	2
Fístula			1	1	1
Sufusiones			1	1	1
Melanosis*		3	6	9	9,2

*: No se considera como alteración patológica.

4.4.2.1.4. Testículos

En el cuadro N° 16 (pág.114) se enumeran los hallazgos macroscópicos, presentes en uno o ambos testículos de 93 toros, agrupados por edad.

Adherencias entre la capas visceral y parietal de la túnica vaginal se detectaron en el 30% de los toros examinados. Las superficies serosas presentaban diferentes grados de compromiso entre sí, que variaban desde áreas focales de unión hasta adherencias generalizadas. (Fotos N°9 y N°10). Estas alteraciones se encontraron con mayor frecuencia en los toros viejos, registrándose a su vez predominio de adherencias unilaterales.

Ocho toros mostraron a la observación de la superficie de corte del testículo, pequeños depósitos de color blanco amarillentos y material calcáreo (mineralización testicular), de forma cilíndrica, sinuosos en su recorrido (adoptando la disposición de los túbulos seminíferos) y de aproximadamente 1 mm de diámetro por 2 a 10 mm de largo (Foto N° 11). La distribución fue generalizada en el parénquima testicular, con excepción de uno de los toros donde la mineralización se ubicó alrededor del mediastino del testículo.

Cuatro toros tenían disminución de la consistencia del testículo y el corte no sobresalía el parénquima del mismo, registrándose dicha anomalía como degeneración testicular.

En un animal se observó una notable disminución del tamaño de una de sus gónadas y conjuntamente aumento de la consistencia testicular. Las medidas del testículo afectado eran de 7,5 cm x 4,5 cm y el peso de 152 g. Este hallazgo semejaba un cuadro de atrofia testicular.

Un solo caso de orquitis fue detectado a la observación macroscópica.

El testículo afectado tenía disminución de su tamaño y pesaba 202 g , mientras que el peso de su homólogo era de 315 g . En el polo inferior del testículo con lesión, se observó presencia de material purulento con distribución focal, formando cavidades quísticas con contenido caseoso. El aislamiento de bacterias patógenas fue negativo.

En un toro de raza Aberdeen Angus de 9 años de edad se detectó una alteración patológica testicular de aspecto tumoral, ubicada en el lado derecho, caracterizada por una marcada diferencia en tamaño , peso y forma en comparación con su homólogo ; sus medidas eran de 17 cm de largo x 10 cm de ancho y pesaba 755 g . Su par de apariencia normal, medía 14 cm de largo

x 6 cm de ancho y pesaba 418 g. La consistencia del testículo alterado estaba considerablemente aumentada. Al corte el tejido era homogéneo y su coloración blanco-grisácea, en contraposición al color marrón bronceado de la otra gónada (Foto Nº 12).

En uno de los 93 toros examinados, se detectó hidrocele (edema), afección caracterizada por la presencia de líquido seroso entre las capas visceral y parietal de la túnica vaginal. En otro toro se evidenció, una hemorragia testicular difusa que teñía el parénquima de color rosado.

Las lesiones testiculares tomadas en conjunto aumentaron en relación con la edad de los toros, siendo estadísticamente significativas ($P < 0,05$ por ji cuadrado).

CUADRO Nº 16 : Número y porcentaje de toros afectados por diferentes anomalías testiculares, agrupados por edad, sobre 93 revisados.

Anomalías Macroscópicas	Nº de toros afectados agrupados por edad			Total	%
	hasta 3 años	4-6 años	7 años >		
Adherencias	2	8	18	28	30,1
Mineralización	1	1	6	8	8,6
Degeneración		1	3	4	4,3
Atrofia Testicular		1		1	1,1
Orquitis		1		1	1,1
Formación Tumoral			1	1	1,1
Edema		1		1	1,1
Hemorragia			1	1	1,1

4.4.2.1.5. Epidídimos

En el cuadro Nº 17 (pág. 116) se observa el número de toros con diferentes afecciones en uno o ambos epidídimos, sobre un total de 86 animales revisados, agrupados por edad.

Se detectaron adherencias en 9 de los toros, siendo aquí al igual que en los testículos, de tipo predominantemente unilateral. Dichas adherencias estaban uniformemente distribuidas en cabeza, cuerpo y cola.

En 4 animales se registró epididimitis, aislándose en 2 casos Br. abortus. En las epididimitis por brucela, la lesión se localizó principalmente en la cola del epidídimo (Foto Nº 13 y Nº 14). Esta presentó a la observación macroscópica un notable aumento de tamaño (2 - 3 veces su tamaño normal) y al tacto una consistencia nodular; la lesión estaba acompañada por adherencias entre las capas parietal y visceral de la túnica vaginal. Al corte, las zonas afectadas revelaron presencia de formaciones quísticas con copioso exudado purulento. No se detectaron anomalías en la cabeza del epidídimo, pero en uno de los 2 toros se registró ampullitis. En los otros dos casos de epididimitis la lesión se generalizó, observándose aumento de tamaño de la cabeza, cuerpo y cola (Foto Nº 15). Al corte, las áreas afectadas, evidenciaron un contenido purulento (Foto Nº 16).

No se aislaron bacterias patógenas de estas lesiones.

En una oportunidad se constató una disminución del desarrollo de la cola del epidídimo diagnosticándose como un caso de hipoplasia de cola epididimaria. El tamaño era 2 veces inferior al normal, no detectándose alteraciones en la consistencia (Foto Nº 17).

En un toro la cola del epidídimo presentó un aspecto lobulado de modo tal que la misma presentaba 3 porciones, que estaban divididas por tabiques incompletos. Excepto esta modificación en la morfología de la cola epididimaria, no fueron observados otros cambios macroscópicos.

La edad resultó ser independiente de la anomalías encontradas, de acuerdo al análisis estadístico por ji cuadrado ($P < 0,05$).

CUADRO N°17: Número y porcentaje de toros afectados por diferentes anomalías en epidídimos, agrupados por edad, sobre 86 revisados.

Anomalías	Número de toros afectados			Total	%
	hasta 3 años	4-6 años	7 años o >		
Macroscópicas					
Adherencias	3	2	4	9	10,5
Epididimitis	2	1	1	4	4,6
Hipoplasia	1			1	1,2
Alteración morfológica de la cole	1			1	1,2

4.4.2.1.6. Vesículas seminales

El cuadro Nº 18 (pág.118) muestra el número de animales afectados por diferentes anomalías macroscópicas en una o ambas vesículas seminales, según categoría establecida por edad.

El número de toros revisados fue 95 y el total de animales con alteraciones en sus vesículas 13.

Se diagnosticó vesiculitis en 10 animales, siguiendo el criterio establecido por Galloway (1964). Las fotos Nº 18 y Nº 19 muestran dos de los casos de vesiculitis.

En dos oportunidades el cultivo bacteriológico resultó positivo, aislándose Br. abortus y C. bovis respectivamente. En ambos casos el lumen de la glándula evidenció exudado purulento. En 4 toros las alteraciones inflamatorias fueron de naturaleza crónica, caracterizadas por aumento del tamaño glandular e induración a la palpación, sin presencia de pus. Al corte se observó que los septos de tejido conjuntivo que separan los lóbulos, tenían aumento del espesor. Los resultados bacteriológicos para estos 4 toros fueron negativos.

Dos toros presentaron hipoplasia bilateral en sus vesículas seminales.

En un animal la vesícula izquierda medía 4,5 cm de largo x 1 cm de ancho; encontrándose en su interior un quiste de 0,8 cm de diámetro que contenía un fluido seroso. La otra vesícula medía 1,5 cm de largo x 1 cm de ancho. Para el otro toro las medidas de sus vesículas fueron 7 cm x 2 cm (vesícula izquierda) y 6 cm x 1,5 cm (vesícula derecha).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia de lesiones en vesículas seminales y la edad de los toros, según análisis por ji cuadrado ($P < 0,05$).

CUADRO Nº 18 : Número y porcentaje de toros afectados por diferentes anomalías en vesículas seminales, agrupados por edad, sobre 95 revisados.

Anomalías Macroscópicas	Nº de toros afectados			Total	%
	hasta 3 años	4-6 años	7 años o >		
Vesiculitis	3		7	10	10,5
Hipoplasia	2			2	2,1
Quistes	1			1	1

4.4.2.1.7. Ampollas de los conductos deferentes

Sobre 98 toros revisados, se diagnosticaron 3 casos de ampullitis.

No se observó presencia de exudado purulento, en cambio se registró aumento del diámetro de esta porción del conducto deferente, así como turgencia a la palpación debida al edema.

En 3 animales fueron detectados quistes con morfología esferoidal u ovoidea que oscilaron entre 0,5 cm y 1 cm de diámetro. La longitud de los quistes ovoides varió entre 1 cm y 4 cm. Estos hallazgos fueron diagnosticados como remanentes de los ductos paramesonéfricos o útero masculino. La localización de dichos remanentes se limitó al área de divergencia de ambas ampollas; los mismos contenían en su interior un fluido seroso. (Foto Nº 20).

Un caso de anomalía de posición, se registró en este relevamiento. Las ampollas estaban ubicadas una sobre la otra y no en su posición paralela habitual.

4.4.2.2. Estudios histopatológicos

4.4.2.2.1. Pene y Prepucio

En los 8 animales con balanitis la reacción inflamatoria fue de naturaleza no supurativa, con respuesta linfoidea moderada y necrosis superficial del epitelio (Foto Nº 21).

Las lesiones fueron en general de tipo erosivo más que ulcerativo. Se detectaron anticuerpos a IBR en 6 de los 8 toros.

En 2 toros la microscopía de los remanentes de frenillo, demostró presencia de tejido conectivo vascularizado e innervado, con acúmulos de linfocitos, formando pequeños folículos.

Nódulos de apariencia papilomatosa que fueron encontrados en el prepucio de 2 toros y en el pene de otros 2 animales, mostraron al examen histológico una reacción inflamatoria con respuesta linfoplasmocitaria y no un proceso de tipo proliferativo neoplásico.

En los 2 toros que tenían prolapso prepucial la lesión histológica se caracterizó por necrosis epitelial e infiltración neutrofílica severa. En la submucosa se observó presencia de mononucleares con hiperplasia de los folículos linfoides. Sobre algunos sectores de la mucosa peneana se observó presencia de abundantes neutrófilos (Foto Nº 22).

En nueve toros con melanosis en la mucosa del pene, se confirmó el diagnóstico microscópicamente, por la presencia de gránulos característicos y por el empleo de la técnica de decoloración del pigmento por H_2O_2 . En uno de estos toros se vio además una reacción inflamatoria de la mucosa del pene, con respuesta pleomórfica constituida por linfocitos, neutrófilos y células plasmáticas.

Las sufusiones presentaron el cuadro típico de las hemorragias, sin estar acompañadas de cambios inflamatorios.

4.4.2.2.2. Testículos, epidídimos y vesículas seminales

Con el fin de ordenar la información disponible, las anomalías microscópicas de estos órganos se clasificaron en : a) Alteraciones degenerativas, b) Alteraciones inflamatorias y c) Alteraciones de la multiplicación celular. A su vez, considerando el grado de intensidad de las lesiones, se las subdividió en leves, moderadas y severas.

4.4.2.2.3. Testículos

Se estudiaron los testículos de un total de 93 animales, resultando 52 (55,9%) de ellos afectados por alteraciones degenerativas de distinto tipo, que se subdividieron de la siguiente forma:

A.a) Alteraciones degenerativas sin otros cambios patológicos.

Las mismas fueron detectadas en 20 toros (21,5%) y en 22 de las 186 glándulas muestreadas (11,8%). Las alteraciones degenerativas del epitelio de los túbulos seminíferos variaron desde espermatidas de aspecto necrótico, hasta cambios profundos del epitelio, con severa vacuolización y diferentes grados de picnosis nuclear en espermatogonias y espermatocitos. En algunos casos los túbulos mostraron ausencia del epitelio seminífero, conteniendo un material homogéneo acidófilo. Las células de Sertoli, fueron los únicos componentes del interior de algunos túbulos. El engrosamiento de las membranas basales fue observado frecuentemente (3 o 4 veces su espesor normal). Las alteraciones mencionadas no tuvieron una distribución homogénea en el corte, observándose algunos grupos de túbulos seminíferos más afectados que otros. Primaron las lesiones de grado moderado y leve.

El cuadro Nº 19 (pág. 124) muestra el número de toros afectados por anomalías degenerativas (A.a) según edad y el número de glándulas afectadas según grado de lesión.

A.b) Alteraciones degenerativas con atrofia testicular

Dos animales mostraron lesiones degenerativas y atrofia testicular. En un toro la alteración se presentó en forma bilateral, mientras que en otro sólo un testículo estaba afectado. A los cambios degenerativos descritos en el grupo anterior, se debe sumar la pérdida de la relación parénquima-tejido intersticial, con notable predominio de este último. En el interior de algunos túbulos se observó presencia de un pigmento amarillo (lipofucsina). Estas glándulas eran macroscópicamente de tamaño reducido con pesos que oscilaron entre 150 y 210 g.

A.c) Alteraciones degenerativas y presencia de infiltración celular

En once toros se observaron cambios degenerativos e infiltración celular, caracterizada por presencia de linfocitos y células plasmáticas, en el conectivo intertubular. Tres de estos animales habían presentado macroscópicamente adherencias en sus testículos. En el 90% de los casos la lesión fue unilateral.

A.d) Alteraciones degenerativas con infiltración celular y aumento del tejido conectivo intersticial.

Ocho toros mostraron un cuadro histológico similar a A.c., con lesiones moderadas y severas, al que se debe agregar el aumento de tejido conectivo intersticial. Estos " puentes de tejido conectivo intertubular " superaban en 3 o 4 veces su espesor normal y la distribución era homogénea en toda la extensión del preparado. En dos animales que evidenciaron procesos de degeneración avanzada, se detectó en algunos sectores presencia de un pigmento amarillo intratubular. Cuatro de estos toros tenían pesos testiculares totales considerados normales, fluctuantes entre 631 g y 888 g y en los otros cuatro, los pesos testiculares totales variaron entre 428 g y 508 g , valores que estuvieron por debajo de la media (\bar{x}) y un desvío estándar (D.E.). Los pesos testiculares individuales oscilaron entre 302 g. y 448 g para los 4 primeros y entre 177 g . y 292 g para los 4 últimos (Foto N° 23). En correspondencia con un cuadro histológico de degeneración severa, 3 de estos 4 toros revelaron al estudio macroscópico una disminución de la consistencia testicular. Estas categorías de alteraciones degenerativas (A.a, A.c, A.d) incluyeron un total de 21 toros afectados por las mismas.

En el cuadro N° 20 (pág. 125) se detalla el número de toros afectados por las diferentes anomalías degenerativas (A.b., A.c. y A.d.) y el número de glándulas afectadas según grado de lesión. Las fotos N° 24, N° 25 y N° 26 ejemplifican los cambios degenerativos descritos.

A.e) Alteraciones degenerativas y mineralización

Los toros que mostraron mineralización testicular a la observación macroscópica fueron 8, y los testículos afectados 13. Cinco de los animales exhibieron la anomalía en forma bilateral y 3 en forma unilateral. Hubo animales que sin evidenciar alteraciones macroscópicas, tuvieron cuadros histopatológicos de mineralización testicular, de localización intratubular, sumando un total de 15 toros afectados (16,1%).

En el cuadro N° 21 (pág. 126) se detallan los toros que presentaron evidencias de lesión macro y/o microscópica de mineralización (sola o asociada a otras alteraciones) y la localización de la lesión.

De los 15 toros analizados microscópicamente, 13 presentaron juntamente con la mineralización, diferentes grados de degeneración testicular (etapas previas a la mineralización) y 7 de estos 13, tuvieron aumento del

tejido conectivo intersticial. Densos conglomerados de espermatozoides muertos, ocluyeron los túbulos en algunos sectores (espermiostasis) (Foto Nº 27).

Cuatro animales mostraron infiltración celular linfoplasmocitaria.

En seis animales la lesión estuvo distribuída en ambas glándulas, en 4 en el testículo derecho y en 5 en el izquierdo (Cuadro Nº 22, pág. 129). Debe mencionarse que en general las alteraciones degenerativas fueron detectadas con mayor frecuencia en los toros adultos y viejos, con respecto a los jóvenes, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($P < 0,05$ por ji cuadrado) (Cuadro Nº 23, pág. 130). La foto Nº 28 muestra un túbulo seminífero calcificado con aumento del tejido intersticial e infiltración mononuclear.

CUADRO Nº 19 : Número de toros afectados por anomalías degenerativas (sin otras modificaciones tisulares), según edad y número de glándulas afectadas según grado de lesión.

Categoría de Toros	Número de toros afectados/número de toros evaluados	Número de glándulas afectadas/número de glándulas evaluadas	Número de glándulas afectadas según grado de lesión degenerativa.		
			Leve	Moderada	Severa
Jóvenes	2/12 (16,6%)	2/24 (8,3%)	-	1	1
Adultos	8/29 (27,5%)	8/58 (13,8%)	4	3	1
Viejos	10/52 (19,2%)	12/104(11,5%)	4	7	1
Total	20/93 (21,5%)	22/186(11,8%)	8	11	3

CUADRO N.º 20 : Número de toros afectados por diferentes anomalías (A.b-A.c-A.d) según agrupamiento por edad, y número de glándulas afectadas según grado de lesión.

Categoría de Toros	Número de toros afectados/número de toros evaluados	Número de glándulas afectadas/número de glándulas evaluadas	Número de glándulas afectadas según grado de lesión degenerativa.		
			Leve	Moderada	Severa
Jóvenes	0/12	0/24	-	-	-
Adultos	7/29 (24,1%)	10/58 (17,2%)	2	6	8
Viejos	13/52 (25%)	16/104 (15,4%)	7	5	4
Total	20/93 (21,5%)	26/186 (14%)	9	11	6

CUADRO Nº 21 : Toros afectados por mineralización testicular macro y/o microscópica (sola o asociada a otras alteraciones)
y localización de la lesión.

Identificación del toro	Edad en años	Lesión macroscópica	Lesión microscópica	Localización de la lesión
Nº 13	6	Mineralización	Mineralización. Cambios degenerativos.	Testículo izquierdo
Nº 19	más de 10	Mineralización	Mineralización. Cambios degenerativos.	Ambos testículos
Nº 20	3	Mineralización	Mineralización. Cambios degenerativos e infiltrado de plasmocitos.	Ambos testículos
Nº 22	9	Consistencia disminuída a la palpación	Mineralización. Cambios degenerativos e infiltrado de plasmocitos. Aumento del tejido conectivo intersticial.	Testículo izquierdo
Nº 23	9	Mineralización	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento del tejido conectivo intersticial. Atrofia tubular	Ambos testículos
Nº 27	7	Mineralización	Mineralización. Cambios degenerativos	Ambos testículos

Continuación cuadro Nº 21

Identificación del toro	Edad en años	Lesión macroscópica	Lesión microscópica	Localización de la lesión
Nº 36	9	Mineralización y adherencias	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento del tejido conectivo intersticial	Ambos testículos
Nº 38	7	Mineralización	Orquitis	Testículo izquierdo
Nº 39	6	Sin lesión	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento del tejido conectivo intersticial.	Testículo derecho
Nº 43	6	Sin lesión	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento del tejido conectivo intersticial.	Testículo derecho
Nº 49	más de 10	Sin lesión	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento del tejido conectivo intersticial.	Testículo derecho
Nº 52	3	Sin lesión	Mineralización. Infiltrado de mononucleares.	Testículo derecho

Continuación cuadro N° 21

Identificación del toro	Edad en años	Lesión macroscópica	Lesión microscópica	Localización de la lesión
N° 60	7	Sin lesión	Mineralización. Cambios degenerativos. Aumento de tejido conectivo intersticial. Infiltrado de plasmocitos.	Ambos testículos
N° 86	10	Mineralización y adherencias	Mineralización. Cambios degenerativos.	Testículo izquierdo
N° 100	más de 10	Sin lesión	Mineralización. Cambios degenerativos.	Testículo izquierdo

CUADRO Nº 22 : Número de toros afectados por mineralización testicular según agrupamiento por edad, y número de glándulas afectadas según grado de lesión.

Categoría de toros	Número de toros afectados/número de toros evaluados	Número de glándulas afectadas/número de glándulas evaluadas	Número de glándulas afectadas según grado de mineralización testicular		
			Leve	Moderada	Severa
Jóvenes	2/12 (16,6%)	3/24 (12,5%)	1	2	-
Adultos	3/29 (10,3%)	3/58 (5,2%)	2	1	-
Viejos	10/52 (19,2%)	15/104 (14,4%)	10	3	2
Total	15/93 (16,1%)	21/186 (11,3%)	13	6	2

CUADRO N° 23 : Número de toros afectados por anomalías degenerativas (A.e- A.e) según agrupamiento por edad y número de glándulas afectadas según grado de lesión.

Categoría de toros	Número de toros afectados/número de toros evaluados*	Número de glándulas afectadas/número de glándulas evaluadas	Número de glándulas afectadas según grado de lesión degenerativa		
			Leve	Moderada	Severa
Jóvenes	4/12 (33,3%)	5/24 (20,8%)	1	3	1
Adultos	16/29 (55,2%)	21/58 (36,2%)	8	10	3
Viejos	32/52 (61,5%)	43/106 (40,5%)	21	15	7
Total	52/93 (55,9%)	69/186 (37,1%)	30	28	11

* El número de animales afectados (adultos y viejos) presenta diferencias con la sumatoria de los mismos, obtenida de los cuadros N° 19 , 20 y 22 . Ello se debe a que en el cuadro N° 23 se omitió la repetición de los toros que evidenciaron distintos tipos de lesiones degenerativas.

B. Alteraciones inflamatorias

Las alteraciones inflamatorias fueron observadas en 7 toros (7,5%); las mismas fueron clasificadas, de acuerdo al tipo de respuesta inflamatoria observada, en : granulomatosas e intersticiales.

Un toro evidenció una respuesta inflamatoria severa de tipo crónico, con características de una reacción granulomatosa no supurativa. Centros necróticos, rodeados por infiltración mononuclear y fibrosis periférica, fueron los cambios más notables. La lesión fue unilateral. Infiltración linfocitaria fue observada en uno de los epidídimos. Este animal fue el único con lesión inflamatoria testicular detectado por macroscopía. No se aislaron bacterias patógenas de la lesión. El suero dió reacción positiva a brucelosis y leptospirosis , con títulos de 1/200 incompleto (prueba de Wright) y 1/25.600 (prueba de aglutinación - lisis) respectivamente (Fotos Nº29 y Nº30).

En 6 toros se registró orquitis de tipo intersticial, caracterizada por infiltración linfoplasmocitaria del conectivo intertubular. En 4 de estos animales la orquitis intersticial era bilateral y estaba acompañada por cambios degenerativos y necrosis del epitelio germinativo, con supresión parcial o total de la espermatogénesis. No se aislaron bacterias de los testículos de estos 4 toros pero se recuperó Brucella abortus de vesícula seminal y epidídimo en uno de ellos y sólo de epidídimo en el otro. Estos animales resultaron reactivos a brucelosis con títulos de 1/50, 1/100 y 1/100 incompleto para la prueba de Wright. (Foto Nº31).

Los cambios inflamatorios se hicieron extensivos a vesículas seminales y epidídimos.

El análisis bacteriológico para los otros 2 animales con este tipo de orquitis resultó negativo; también fueron negativos los sueros procesados para brucelosis.

Complementariamente a las alteraciones inflamatorias descritas, en 11 toros (11,5%), se observaron pequeños y poco frecuentes acúmulos inflamatorios de linfocitos y plasmocitos, localizados en el intersticio tubular. Debe mencionarse que en 8 de estos 11 toros sus epidídimos o vesículas seminales presentaban cambios histológicos similares, o bien lesiones inflamatorias de tipo intersticial.

C. Alteraciones de la multiplicación celular

Un animal reveló un cuadro histológico de naturaleza neoplásica, defini-

do como tumor de células de Sertoli, que corresponde a la formación tumoral descrita en el estudio macroscópico. El testículo afectado presentó pérdida total de la arquitectura. Las células neoplásicas eran grandes, de contornos citoplásmicos mal definidos, con núcleos hipercromáticos, ocupando en la mayoría de los casos la totalidad de la luz tubular. En algunos casos se observó crecimiento neoplásico fuera de la membrana basal del túbulo (Fotos Nº 32, Nº 33 y Nº 34). En algunos túbulos se observaron cambios degenerativos importantes, haciendo difícil la identificación del origen de las células. En unos pocos túbulos se detectó lipofucsina. Hubo un notable aumento de tejido conjuntivo intersticial y presencia de infiltración mononuclear en algunos sectores (Foto Nº 35). En muy pocos túbulos neoplásicos, se observaron pequeños "islotes" de células no tumorales, de aspecto conectivo y núcleo alargado, poco prominente, rodeadas por un material eosinofílico, de aspecto semejante a la membrana basal (Foto Nº 36). Pocas figuras mitóticas fueron detectadas. En el testículo homólogo se detectó degeneración tubular avanzada, con mineralización testicular en algunas zonas. Ambos epidídimos mostraron azoospermia.

En 11 animales (11,8%) de los tres grupos etáreos se registró incremento variable del tejido conectivo intersticial (en 5 casos leve, en 5 moderado y en un caso severo) sin cambios significativos en el epitelio seminífero y en las células de Leydig. Esta alteración se observó sólo en toros adultos y viejos.

4.4.2.2.4. Epidídimos

Un total de 172 epidídimos correspondientes a 86 toros, fueron examinados por análisis microscópico.

Se empleó un criterio de clasificación similar al utilizado para la evaluación de los testículos.

A.- Anomalías degenerativas

En 9 toros (10,4%) se detectaron cambios degenerativos de grado leve en el epitelio epididimario. Dichos cambios consistieron en vacuolización de las células de los túbulos, descamación y presencia de un material acidófilo y homogéneo en el lumen tubular.

Las lesiones fueron predominantemente unilaterales (66,6%). No se registraron cambios en toros jóvenes. Cabe destacar que en 31 animales (36%) se visualizaron células de localización intratubular con apariencia de células gigantes (Foto Nº 37). En cuatro de ellos se observó infiltración de tipo mononuclear en el intersticio epididimario.

A su vez, en estos 31 animales se observaron otros cambios: el 45,2% tenía degeneración testicular y el 48,4% sufrió anomalías degenerativas de sus vesículas seminales. El 58,1% de los machos afectados pertenecía a la categoría viejos.

La distribución de la lesión en forma uni o bilateral fue similar (15 y 16 toros respectivamente).

Debe mencionarse que en 8 toros donde se observaron cambios degenerativos importantes en sus testículos, había menor cantidad de espermatozoides en la luz de los túbulos del epidídimo o bien azoospermia (para el caso del toro con diagnóstico de tumor de células de Sertoli)

De estos 8 animales el 87,5% pertenecía a la categoría viejos.

B.- Alteraciones inflamatorias

De 86 toros examinados para detección de anomalías en sus epidídimos, 7 (8,1%) revelaron cambios inflamatorios. En cuatro de ellos, las lesiones macroscópicas fueron evidentes y unilaterales; por microscopía se corroboró la alteración de los epidídimos homólogos. En estos cuatro toros la reacción tuvo características de granuloma múltiple, con un foco de necrosis central, constituido por conglomerados de espermatozoides y restos celulares, y una zona externa compuesta por plasmocitos, mononucleares chicos (linfocitos) y grandes (macrófagos) y células gigantes. En algunos granulomas se observó calcificación. Si bien en los cuatro animales se detectaron anticuerpos a brucelosis, con títulos de 1/50 y 1/100 por la prueba de Wright, sólo en 2 se aisló Brucella abortus de las lesiones. La foto N° 38 muestra una reacción granulomatosa en un túbulo del epidídimo, producida por Brucella abortus, que corresponde a la epididimitis macroscópica de la foto N° 13.

Modificaciones tisulares fueron también evidentes en testículos y vesículas seminales.

En otros tres animales la epididimitis fue de tipo intersticial y grado moderado, sin cambios macroscópicos visibles; infiltrado constituido por linfocitos y células plasmáticas, fue observado en el tejido conectivo intertubular. En un toro, el infiltrado también se visualizó en uno de los testículos. No se detectaron anticuerpos para brucelosis en ninguno de estos 3 toros. En 14 toros (16,3%) se visualizaron " foquitos " aislados, formados por linfocitos y plasmocitos, en el intersticio tubular.

C.- Anomalías de la multiplicación celular

La hipoplasia de cola epididimaria que se diagnosticó por macroscopía, fue confirmada por el estudio histológico. Los túbulos epididimarios eran menores en número y diámetro, comparados con túbulos normales; asimismo, se observó disminución de la altura del epitelio (Fotos N°39 y N°40). No se detectaron cambios en el epidídimo homólogo. Este animal también presentó hipoplasia de sus vesículas seminales.

4.4.2.2.5. Vesículas seminales

Se analizaron las vesículas seminales de 95 toros. El criterio de clasificación adoptado aquí, fue similar al descrito anteriormente para los testículos y epidídimos.

A.- Alteraciones degenerativas

Los toros que revelaron cambios degenerativos y/o necrotizantes del epitelio tubular fueron 30 (30,5%). Predominaron las lesiones de grado leve, aunque se detectaron algunas de grado moderado. Dichos cambios se caracterizaron por : vacuolización de las células epiteliales, necrosis, picnosis nuclear y descamación.

El número de glándulas lesionadas fue 40 (21%) y los toros afectados fueron en su mayoría viejos (63,3%).

Debe mencionarse que del total de estos 30 toros con anomalías degenerativas en vesículas seminales, el 65,5% reveló lesiones degenerativas en sus testículos (todas las combinaciones descritas) y el 45% evidenció presencia de células gigantes en la luz de sus túbulos epididimarios.

B.- Alteraciones inflamatorias

En 15 toros se diagnosticó vesiculitis por estudio histológico (15,7%) Las glándulas afectadas fueron 23 (12,1%). De estas 23, 14 presentaron un grado de lesión leve; 4 un grado moderado y 5 glándulas, revelaron una respuesta severa.

Las reacciones inflamatorias, fueron en su mayoría de tipo crónico.

El 53,3% de los toros con esta anomalía tenían 7 o más años.

En 12 toros se observaron lesiones epiteliales degenerativas y necróticas como las descritas, acompañadas en algunos casos por pròliferación del epitelio y en todos los casos por leve infiltración linfoplasmocitaria y fibroplasia del intersticio. A pesar de la apariencia macroscópica purulenta del exudado de alguna de estas glándulas, histológicamente no se observó presencia de polimorfonucleares.

Cabe señalar que todos estos animales fueron reactores serológicos a brucelosis, con títulos que oscilaron entre 1/25 y 1/200 incompleto, por la prueba de Wright. De uno de estos toros se aisló Br. abortus, a partir de una de sus vesículas seminales. En los 3 toros restantes los cambios microscópicos se localizaron solamente a nivel intersticial y fueron similares a los cambios observados en los otros 12 toros. Corynebacterium bovis fue aislado de un animal. Las fotos N° 41 y N° 42 muestran la vesícula afectada de este toro donde se observaron los cambios inflamatorios descritos y un material basófilo en el lumen glandular. Comparativamente las fotos N°43 y N°44 muestran una vesícula seminal sin cambios patológicos. Sólo el animal del que se aisló Corynebacterium bovis fue reactor positivo a brucelosis con un título de 1/200 incompleto a la prueba de Wright.

El cuadro N° 24 (pág. 136) detalla los toros afectados por vesiculitis, tipo de lesión macroscópica, cambios microscópicos observados y niveles de anticuerpos alcanzados para brucelosis.

En 5 de los toros las vesiculitis fueron unilaterales al examen macroscópico, pero por histopatología se confirmó la lesión en ambas glándulas. Sólo en dos casos, tanto el análisis macroscópico como el microscópico, revelaron lesión unilateral.

En tres toros se observaron cuerpos basofílicos, redondos, distribuidos en la luz de los acinos (Foto N°45). Este hallazgo ha sido incluido dentro del punto B, por considerarse asociado a cambios inflamatorios y degenerativos.

Once toros (11,5%), adultos y viejos, presentaron pequeños y pocos focos de infiltración celular, constituidos por linfocitos y células plasmáticas, similares a los observados en testículos y epidídimos.

CUADRO Nº 24 : Toros afectados por vesiculitis, tipo de lesión microscópica, cambios macroscópicos observados, y niveles de anticuerpos alcanzados para brucelosis.

Nº de Toro	Alteración microscópica	Alteración macroscópica	Nivel de anticuerpos para Brucelosis (Prueba de Wright)
21	+	Aumento de tamaño y fibrosis	-
32	+	Exudado de apariencia purulenta	1/100 I
33	+	Exudado de apariencia purulenta	1/50
38	+	Sin cambios	1/50
41	+	Sin cambios	1/100 I
42	+	Sin cambios	1/100 I
48	+	Exudado de apariencia purulenta	1/100
61	+	Sin cambios	1/200 I
62	+	Exudado de apariencia purulenta	1/50
66	+	Aumento de tamaño y fibrosis	1/25
67	+	Sin cambios	1/25
70	+	Exudado de apariencia purulenta	1/100
73	+	Aumento de tamaño y fibrosis	1/100
75	+	Exudado de apariencia purulenta	1/100
86	+	Aumento de tamaño y fibrosis	-

* Infiltrado mononuclear intersticial

** Infiltrado mononuclear intersticial y alteraciones epiteliales

C.- Alteraciones de la multiplicación celular

Un caso de hipoplasia de vesículas seminales fue diagnosticado en este relevamiento en un toro de 2 años de edad. Ambas glándulas estaban afectadas. El epitelio no superó una línea celular y hubo aumento moderado del conectivo intersticial. El otro caso de hipoplasia no fue confirmado por histología.

Las fotos N° 46 y N°47 muestran la vesícula seminal del toro afectado por hipoplasia; nótese la diferencia con una glándula de un toro sin cambios patológicos (fotos N°43 y N°44). Hubo un quiste dentro de esta vesícula, cuyo epitelio era de tipo plano cuboidal.

En 3 toros se notó un aumento del tejido conectivo intersticial que no estuvo acompañado de otras modificaciones tisulares. No hubo lesiones macroscópicas en dichos animales. Los toros con esta anomalía eran mayores de 7 años.

4.4.2.2.6. Ampollas de los conductos deferentes

Solamente se tomaron muestras de aquellas ampollas que presentaron evidencias de alteración a la observación macroscópica.

B.- Alteraciones inflamatorias

De los tres toros que habían manifestado signos de ampullitis, en dos se confirmó el diagnóstico por análisis histopatológico.

Se observó necrosis del epitelio tubular con acumulaciones difusas y focales de linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos. Hubo aumento de la cantidad de tejido conectivo. Estos dos toros fueron reactores serológicos a brucelosis, con títulos de 1/100 y 1/100 incompleto (por la prueba de Wright).

Los toros afectados evidenciaron vesiculitis.

5- DISCUSION

El toro de rodeo es un elemento esencial en la producción de carne. Asegurar la sanidad de los toros, significa asegurar en alto porcentaje la eficiencia reproductiva de un establecimiento. El envío de un toro a faena, debería preocupar no sólo al profesional veterinario, sino también al productor, ya que las pérdidas en toros contribuyen a la reducción del "stock" ganadero nacional. No existen en Argentina, registros que nos permitan conocer bajo qué circunstancias se determina el descarte de reproductores. Probablemente, hay factores de descarte que pueden ser deductibles (edad, aplomos, la venta de toros como alternativa de ingresos) pero existen otros, que sólo podrán ser evidentes si se efectúan estudios minuciosos que esclarezcan la relación causa-efecto (alteraciones genitales, afecciones oculares, enfermedades venéreas, etc.).

Bellenger (1971) ha señalado que las afecciones genitales, las osteoartritis y la senilidad, son factores que afectan a gran número de toros en Australia.

A través de este estudio se ha obtenido información referida a las alteraciones genitales observadas en 100 toros procedentes de un frigorífico del Sudeste de la Pcia. de Bs. As. El muestreo fue realizado al azar, desconociéndose la historia reproductiva de cada animal. Al considerar los datos de raza, se observó que la más significativa del relevamiento fue Aberdeen Angus, la cual representó un 78% del total de toros revisados. Este porcentaje coincide con el obtenido para dicha raza y sus cruizas, en el área Sudeste de la Pcia. de Buenos Aires. Con respecto a las otras razas, los porcentajes observados fueron algo menores a los registrados para esta zona, con diferencias del orden de 3 a 12% (Melucci, 1987).

En el análisis de esta población se registró que el 53% de los animales evaluados, pertenecía a la categoría viejos, lo cual sugiere que la edad es un factor de alta significación en el envío de los toros a faena. Cabe destacar que se ha detectado una mayor frecuencia de lesiones en toros adultos y viejos, lo cual es razonable, si se considera que los animales viejos tienen mayor oportunidad de desarrollar alteraciones patológicas genitales o de otro tipo (afecciones del aparato locomotor, alteraciones oculares, etc.). Estos hallazgos coinciden con los de otros autores (Ladds y col., 1973; Mosaheb y Ladds, 1973; Basghaw y Ladds, 1974 a). Así, Ladds y col. (1973) observaron que las afecciones testiculares se acentuaban

a medida que los toros envejecían, mientras que Mosaheb y Ladds (1973) registraron mayor número de alteraciones de pene y prepucio en toros viejos que en toros jóvenes. Basghaw y Ladds (1974a) informaron que las alteraciones patológicas en glándulas sexuales accesorias de toros de matadero, son encontradas más frecuentemente en toros viejos.

De acuerdo con los resultados que se han obtenido sobre brucelosis, se estima que probablemente un porcentaje considerable de los toros que se envían a faena, obedezca al hecho de adjudicarle excesiva importancia al rol del toro como transmisor de la enfermedad, cuando en realidad no la tiene, en condiciones de servicio natural. Por otro lado, es necesario que el veterinario de la actividad privada tenga en cuenta el concepto de que la interpretación de los títulos aglutinantes en el macho, es exactamente igual que para animales no vacunados; esto significa no incurrir en el error de enviar a faena animales con títulos bajos, sin efectuar muestreos seriados, acompañados de pruebas complementarias. Asimismo, cabe destacar que el examen serológico debe realizarse en combinación con el examen clínico, para evitar falsos diagnósticos y con ello decidir sobre el destino del toro en forma equivocada.

Si bien en este trabajo de tesis no se contempló la detección de enfermedades venéreas, dicha detección fue efectuada en forma paralela al mismo, habiéndose utilizado en los muestreos los mismos animales. En el 23 % de estos toros se diagnosticó campylobacteriosis por cultivo e inmunofluorescencia (Cipolla y col., 1984), mientras que sólo 1 de los 100 toros tenía trichomoniasis. Teniendo en cuenta que todas las cepas de Campylobacter fetus que se aislaron fueron identificadas como variedad intestinalis (Campylobacter fetus fetus), siendo el habitat de esta variedad diferente al del tipo venéreo, y que además se trataba de aislamientos en animales de matadero , parece muy probable considerar que esta infección pueda deberse a contaminación con materia fecal. A juzgar por nuestros resultados y a pesar del bajo número de toros analizados, surge que la trichomoniasis y la campylobacteriosis no parecerían ser relevantes factores de descarte en este área. Particularmente en el caso de la trichomoniasis, esto estaría avalado por la opción del tratamiento con trichomonocidas, en lugar del envío a frigorífico.

Actualmente otro tipo de afecciones como aquellas del aparato locomotor, han sido encontradas con alta frecuencia en toros. Casos de osteocondrosis, enfermedad articular degenerativa y osteofitosis fueron diagnosticadas

en toros, a partir de los 5 años de edad (Weisbrode y col., 1982). Como este estudio se refiere exclusivamente al área genital, se carece de información sobre alteraciones osteoarticulares. Por lo tanto sería interesante desarrollar futuros trabajos tendientes a investigar qué tipo de problemas locomotores tienen nuestros toros y con qué frecuencia se presentan.

En un futuro no muy lejano la permanencia de un reproductor en el rodeo va a estar condicionada no sólo por factores tales como la edad y el estado sanitario, sino también por la capacidad reproductiva y el comportamiento sexual del animal. Si el toro no reúne las condiciones necesarias para permanecer dentro del establecimiento, recién entonces será enviado a faena. De este modo podremos cumplir con dos premisas: por un lado, al tener toros estrictamente seleccionados, tendremos mayor producción de terneros y por otro lado, estaremos seguros de condenar a frigorífico a aquel toro que realmente lo merezca.

5.1. Estudios microbiológicos

5.1.1. Brucelosis

Son pocos los trabajos que describen la infección en forma natural por Br. abortus en el toro, y menos aún en forma experimental (Lambert y col., 1963; Rankin, 1965; Cedro y col., 1967, 1968; Mc Caughey y Purcell, 1973; Plant y col., 1976; Yantorno y col., 1979; Trichard y col., 1982). Esto obedecería a que los machos no constituyen desde el punto de vista epidemiológico un gran inconveniente, debido al pequeño número que representan en el rodeo (Christie y col., 1968) y también por carecer de importancia la transmisión venérea (Rankin, 1965).

La problemática fundamental en el macho radica en el diagnóstico, ya que plantea dificultades en su interpretación pues no siempre existe correlación entre el título serológico y la presencia de infección. Así, Lambert y col. (1963) correlacionaron los resultados serológicos, bacteriológicos y anomalías macroscópicas en 2 toros infectados en forma natural; Rankin (1965) encontró correlación entre la seroaglutinación, la patología y el cultivo bacteriológico en 6 sobre 12 toros testados, mientras que Cedro y col. (1967, 1968) aislaron Br. abortus en 44 oportunidades, sobre un total de 431 toros de frigorífico. Los autores lograron la recuperación de la bacteria en 17 animales con serología positiva, que tenían lesiones macroscópicas de genitales. Inclusive, en el mismo relevamiento, obtuvieron bacteriología positiva en 13 sobre 177 toros que eran negativos a la prueba de seroaglutinación en placa.

En este relevamiento se registró un 42% de animales reactivos serológicos con títulos \searrow a 1/25, aislándose Brucella abortus sólo en 2 toros con signos manifiestos de epididimitis. De los 42 toros citados, 15 presentaban lesiones inflamatorias (macro y/o microscópicas) en testículos, epidídimos y/o vesículas seminales. Las lesiones observadas en estos 15 toros eran de carácter crónico, registrándose predominio de reacciones de tipo granulomatoso o necrotizante, acompañadas en algunos casos por respuesta intersticial. De los 57 toros serológicamente negativos, 7 tenían alteraciones inflamatorias caracterizadas por aumento del tejido intersticial e infiltración linfoplasmocitaria del mismo. En estos 7 toros el aislamiento bacteriano fue negativo. Los intentos realizados para aislar la bacteria de animales sin lesiones (27 toros), ya sea por cultivo directo, o por inoculación en

cobayos resultaron infructuosos, difiriendo en este sentido con los hallazgos de Cedro y col. (1967, 1968). Esta baja frecuencia de aislamiento podría ser debida a las siguientes causas: 1) que la bacteria pueda residir en otro lugar que no sean los órganos genitales analizados o ganglios linfáticos ilíacos; 2) falta de especificidad de la respuesta serológica, por reacción cruzada con Yersinia enterocolítica serotipo O9, Pasteurella sp., Campylobacter fetus spp., Salmonella sp.; 3) que el toro se haya librado de la infección; 4) fallas en el método de aislamiento. La primera de las causas es muy factible que ocurra, sobre todo si se tiene en cuenta la vía oral para explicar la patogenia de la enfermedad. De esta forma, el microorganismo se localizaría en los ganglios linfáticos retrofaríngeos u otros ganglios de la cabeza, propagándose luego a otros tejidos linfoides, incluyendo bazo, ganglios linfáticos inguinales e ilíacos y aparato reproductor. Si bien en este ensayo, la extracción de los ganglios linfáticos retrofaríngeos, resultó imposible por razones operativas, debe tenerse en cuenta la posibilidad de acantonamiento en dichos ganglios, cuando se desee lograr el aislamiento de Br. abortus (Hendricks, 1986). Sin embargo, aunque no pudimos aislar la bacteria en la mayoría de los toros que presentaron alteraciones de naturaleza inflamatoria en sus órganos genitales (con excepción de 2 casos), debe mencionarse que en estos animales se detectaron anticuerpos contra brucelosis, con títulos \geq a 1/25 por seroaglutinación. Si a lo expuesto se suma el hecho de ser la brucelosis, una de las infecciones más frecuentemente encontradas en nuestros rodeos, se podría inferir que en los genitales de los toros recién citados se han desarrollado procesos de tipo inflamatorio provocados probablemente por Br. abortus.

La caracterización de los hallazgos macro y microscópicos de los 2 toros positivos al cultivo, coincide con la bibliografía consultada (Lambert y col. 1963; Rankin, 1965; Trichard y col., 1982).

Con respecto a las cepas aisladas, debe mencionarse que las mismas fueron tipificadas como Brucella abortus biotipo 1 y Brucella abortus biotipo 1 con características de cepa 19. En Argentina, hasta el presente, se han descrito 3 biotipos de origen bovino. El biotipo 1, es el más comúnmente encontrado, apareciendo en orden de frecuencia el 4 y el 2 respectivamente (Cedro y col., 1967; García Carrillo y col., 1972; Cedro y col., 1978/79; González Tomé y col., 1985). Cabe destacar que si bien se utilizó un medio de cultivo sin el agregado de antibióticos y se evitó la incorporación de colorantes (cristal violeta) en los medios empleados, no se logró el aisla-

miento del biotipo 2. Esto podría obedecer a lo siguiente: 1) el medio sin antibióticos posibilitó el crecimiento de contaminantes en alto grado, los que podrían haber inhibido el desarrollo de Br. abortus; 2) que la cepa es muy exigente en condiciones de cultivo; 3) baja prevalencia de este biotipo (García Carrillo y col., 1972). El mismo exige medios específicos enriquecidos con suero o sangre, exentos de colorantes bacteriostáticos y/o antibióticos y atmósfera enriquecida con 5 a 10% de CO₂ (González Tomé y col., 1985); además es sumamente sensible a balances incorrectos de aminoácidos. En ciertos casos los medios de cultivo pueden llegar a ser inadecuados y es posible que ello se deba a factores tóxicos de ciertos lotes de peptona deshidratada, por la degradación del aminoácido cistina y liberación de sulfuros. Este efecto se neutraliza con el agregado de suero o sangre (Robertson y col., 1977).

En cuanto a la cepa tipificada como Brucella abortus biotipo 1 con característica de cepa 19, puede decirse que se pone en evidencia una vez más, el efecto nocivo de esta cepa sobre el aparato genital del macho, trayendo aparejada una enfermedad de tipo crónico que altera la espermatogénesis (Yantorno y col., 1979). Sin embargo, se ha informado que la infertilidad provocada en el toro por Br. abortus parece deberse más que a fallas en la espermatogénesis, a una modificación de la conducta copulatoria, causada por el dolor producido en los órganos afectados (Rankin, 1965). La infección con esta cepa se debe probablemente a la falta de criterio en la administración de la vacuna o a un hecho accidental, poniendo de manifiesto el peligro potencial que representan los toros vacunados con cepa 19 o aquellos infectados naturalmente, si su semen es utilizado para inseminación artificial (Yantorno y col., 1979). Manthei y col. (1950; citado por Rankin, 1965) lograron un alto porcentaje de infección en vacas inseminadas con semen infectado, sólo cuando se utilizó la vía intrauterina. A partir de estos hallazgos, se le ha restado importancia a la diseminación de estas bacterias por servicio natural. No obstante ello, se debe evitar el riesgo de tener en un rodeo libre de infección un macho que albergue brucelas en sus genitales.

Con referencia a los resultados obtenidos con los medios de cultivo utilizados, cabe destacar que el medio agar triptosa suero con antibióticos resultó eficaz para evitar la contaminación bacteriana en la siembra de testículos, vesículas seminales, epidídimos y ganglios linfáticos ya que en más del 85%

de los casos, los contaminantes no cubrieron más de 1/3 de la superficie de la placa.

Las placas sembradas en medio agar triptosa suero sin antibióticos evidenciaron alto grado de contaminación. En un 44,6% de las mismas los contaminantes cubrieron entre 2/3 y 3/3 de la superficie sembrada. Por el contrario, el uso de este último medio para la siembra de muestras obtenidas de los cobayos, resultó altamente satisfactorio, ya que en sólo un 10% de las placas se observó alto grado de contaminación (entre 2/3 y 3/3).

Estos hallazgos indican la necesidad de incorporar antibióticos a los medios empleados en la siembra de muestras procedentes de genitales de animales de frigorífico, ya que es sumamente dificultoso obtenerlas en forma aséptica.

5.1.2. Bacterias aerobias

Se procesó un total de 41 muestras. Al sembrar 25 de las mismas, correspondientes a 12 toros con lesiones inflamatorias en testículos, vesículas seminales y/o epidídimos, se aisló una cepa de Corynebacterium bovis de un caso de vesiculitis. Si bien se han registrado comúnmente infecciones por el género Corynebacterium en toros afectados por vesiculitis, la especie bovis no ha sido citada como productora de lesión en vesículas seminales. En cambio el citado microorganismo ha sido aislado de una biopsia testicular (Plant y col., 1976). Corynebacterium pyogenes parece ser el patógeno encontrado con mayor frecuencia en los procesos inflamatorios de las vesículas seminales (Mc Entee, 1962; Galloway, 1964). El resultado negativo a bacterias aerobias en las muestras de 9 toros podría deberse a que probablemente Br. abortus haya estado involucrada en las distintas alteraciones encontradas, ya que en dos oportunidades se logró aislar este microorganismo. Esta consideración está avalada por el hecho de que 7 de los 9 toros citados, tenían anticuerpos a brucelosis detectados en por lo menos 2 de todas las pruebas serológicas realizadas. Por otro lado, debería agregarse que en general las lesiones encontradas fueron de tipo crónico, de donde resulta muy difícil efectuar aislamientos.

En casos de mineralización testicular (8 muestras) el aislamiento de aerobios fue negativo. En los 8 toros con signos de balanitis el aislamiento de bacterias aerobias también fue negativo. Si bien todos estos toros tenían lesiones similares a las producidas por agentes víricos y en 6 de ellos se detectaron anticuerpos a IBR, no se pudo establecer correlación debido al bajo número de observaciones realizadas y a la inespecificidad de la lesión.

5.1.3. Micoplasmosis

Los resultados microbiológicos fueron negativos para todas las muestras analizadas. Las mismas técnicas culturales dieron resultados positivos, cuando se realizaron los primocultivos de las cepas patrones. Los cultivos negativos a mycoplasmas en las muestras procesadas, podrían deberse a varias causas: 1) número relativamente bajo de muestras sembradas (200 vesículas seminales) si consideramos una muy baja incidencia de la infección, ya que de acuerdo a lo informado por Fish y col. (1985) la frecuencia de aislamiento en vesículas seminales es baja; 2) en el caso de haber existido muestras positivas, las mismas podrían haber perdido viabilidad por cambios en la temperatura de mantenimiento de las muestras (de -70°C a -20°C) antes del procesamiento, debido a que se detectaron fallas en nuestros equipos de congelación; 3) otras posibles etiologías que hayan determinado los procesos inflamatorios observados en las vesículas seminales. Cabe destacar que 13 de 15 toros afectados por vesiculitis, presentaron títulos aglutinantes contra brucelosis a 1/25, a pesar de no haberse aislado la bacteria (excepto en 1 caso). La etiología de Br. abortus parece bastante probable, si se considera la alta incidencia de esta enfermedad en nuestros rodeos. Se descarta la posibilidad de fallas en la calidad de los medios de cultivo, ya que éstos fueron remitidos a la Dra. Dora Crespo (Docente de la Cátedra de Microbiología y Parasitología - Facultad de Odontología - U.N.B.A.) quien constató la eficiencia de los mismos.

Con respecto a las cepas patrón recibidas del exterior, debe mencionarse que algunas no desarrollaron por subcultivos posteriores, por lo que podría inferirse que la liofilización pudo haber disminuído el número de microorganismos viables.

No obstante los resultados obtenidos en este estudio y considerando que aún no está totalmente dilucidado el verdadero rol de los mycoplasmas en las afecciones del tracto reproductor, sería conveniente insistir en la búsqueda de este agente en casos de lesiones en vesículas seminales y otros órganos de dicho tracto. Esto permitiría establecer la presencia o no del agente y ayudaría a clarificar su rol en las afecciones de la esfera genital. Debería enfatizarse la búsqueda de Mycoplasma spp en toros usados para inseminación artificial, por el peligro potencial que representa la comercialización de semen contaminado.

5.2. Estudios Serológicos

5.2.1. Brucelosis

La falta de correlación entre los hallazgos serológicos, patológicos y bacteriológicos, es observada con frecuencia cuando se efectúan estudios sobre brucelosis en el toro. Así, mientras algunos autores sugieren que la infección está asociada a bajos títulos aglutinantes, otros han establecido que los títulos altos son los que resultan de toros infectados (Plant y col., 1976).

En nuestro país, Cedro y col. (1967, 1968) aislaron brucelas de toros serológicamente negativos y fallaron en aislar dichas bacterias de órganos genitales y ganglios satélites, en toros con títulos serológicos de 1/800. Estos resultados indicarían la localización de brucelas en otros órganos u otros ganglios linfáticos. Este concepto de que la infección va acompañada de bajos títulos serológicos, se ha mantenido a través del tiempo, y es probable que debido a ello, en exposiciones rurales, cabañas y algunos establecimientos se consideren como animales brucelosos aquellos con títulos aglutinantes \geq a 1/25. Asimismo, es también factible que la gran mayoría de los veterinarios envíen a faena a estos toros "brucelosos". De acuerdo a lo expuesto, sería de gran interés conocer si el control de brucelosis en el macho, está acompañado del empleo de otras pruebas serológicas, examen genital y medidas profilácticas en el rodeo, tales como la serología en hembras, eliminación de hembras positivas, aislamiento de los animales que abortan, etc. En caso contrario, se estaría adjudicando una elevada importancia a los títulos bajos, que podrían deberse a reacciones inespecíficas. Por otro lado, debe destacarse que la presencia de un toro bruceloso en el rodeo no implicaría un factor de riesgo en la diseminación de la enfermedad, ya que la transmisión venérea sólo tiene relevancia cuando se inocula semen infectado por vía intrauterina (Manthei y col., 1950; citado por Rankin, 1965).

De acuerdo a SENASA (1982) se ha establecido que para las pruebas de aglutinación en el toro, títulos de 1/50 incompleto deben considerarse sospechosos y títulos \geq a 1/100 positivos.

En los análisis serológicos realizados en este relevamiento, se han registrado en general títulos bajos; los niveles máximos alcanzados para la prueba de seroaglutinación en tubo, han sido del orden de 1/400 incompleto y este título fue observado en sólo 2 de 36 (5,5%) toros reactores para esta prueba. Esta consideración concuerda con Christie y col. (1968) quienes han sostenido que el nivel de anticuerpos detectados en el suero de toros es generalmente bajo, no pudiéndose explicar el mecanismo de este fenómeno.

De acuerdo con el cuadro Nº25 la prueba de la tarjeta, fue con excepción de las pruebas de seroaglutinación, la que detectó mayor número de animales reactivos. Esto podría deberse a que dicha prueba tiene alta sensibilidad y/o a que con la misma la presencia de anticuerpos es demostrada más precozmente que con las otras pruebas (Szyfres, 1982). Un toro del ensayo, reaccionó únicamente a la prueba de fijación de complemento, evidenciando la alta especificidad y sensibilidad de la misma.

En el grupo de toros jóvenes se registró un mayor porcentaje de reactivos en contraposición a las otras dos categorías (Cuadro Nº26). Este hecho podría ser debido a que los toros jóvenes están más expuestos a la infección, mientras que los adultos y viejos probablemente sufran infecciones crónicas, y aparezcan en sus sueros las llamadas "coprecipitinas", no demostrables por las pruebas serológicas comúnmente utilizadas (Margni, 1977).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que la población evaluada proviene de matadero y las causas de descarte y venta influyen sobre los problemas detectados en las diferentes categorías.

De acuerdo con el cuadro Nº27 surge que dos toros que eran negativos a la prueba en placa, fijación de complemento y tarjeta, resultaron positivos a la prueba del 2-mercaptoetanol y también uno de ellos al rivanol. Esto podría indicar actividad Ig G, por lo cual en casos como éste deberían efectuarse muestreos posteriores, para determinar mediante fijación de complemento, si se trata de una posible infección o de reacciones inespecíficas.

Con respecto al grupo de toros sospechosos por la prueba rápida en placa, puede observarse que si se compara esta última con la prueba de fijación de complemento, sólo 3 toros resultaron brucellosos, mientras que con el 2-mercaptoetanol y rivanol se detectaron 4 animales, y con la prueba de tarjeta 9.

Especialmente en esta categoría de animales, es de suma importancia confirmar aquellos infectados por fijación de complemento. Si por razones de incapacidad operativa, no puede efectuarse fijación de complemento, deberían realizarse obligatoriamente las pruebas del 2-mercaptoetanol o rivanol. Esta observación, está avalada por los resultados obtenidos por González Tomé y col. (1987 a) quienes considerando como animales infectados a los reaccionantes con títulos \geq a 1/25 al 2-mercaptoetanol, lograron disminuir la prevalencia de la enfermedad en un rodeo de cría con alto porcentaje de infección.

Cabe destacar que en nuestro estudio la prueba de la tarjeta se comportó como una buena prueba tamiz, pues dentro del grupo de reactivos a esta prueba estaban incluidos los positivos al 2-mercaptoetanol, rivanol y fijación

de complemento; si bien con la prueba de la tarjeta obtuvimos algunos resultados inespecíficos, el número de éstos fue menor al detectado por las pruebas de seroaglutinación.

De la observación del cuadro Nº 28 surge que el 68% de los animales que tenían lesiones en sus órganos genitales presentó aglutininas brucélicas en su sangre. Ostrowski y Sackman Muriel (1970) analizaron sueros de toros de rodeo, con lesiones genitales (sobre todos casos de vesiculitis) y detectaron un 48 % de animales con títulos a brucelosis \geq a 1/25. Esto estaría indicando, que en áreas infectadas como las nuestras, las alteraciones de tipo inflamatorio del aparato reproductor en toros enviados a faena, probablemente responden a un origen brucelósico.

Cabe destacar que 5 de los 77 animales sin lesión macroscópica aparente, y con presencia de título serológico, mostraron reacciones inflamatorias no supurativas al examen histológico, lo cual podría estar indicando formas subclínicas de la enfermedad. Así Lambert y col. (1963) han sostenido que los toros infectados pueden o no, tener evidencia clínica de la lesión, por lo que recomiendan efectuar conjuntamente con la evaluación clínica, los exámenes bacteriológicos e inmunológicos correspondientes.

Con respecto a estos últimos, la mayoría de los autores consideran que en la aglutinación seminal se detectan títulos más altos que en el suero, demostrándose con esta prueba infecciones localizadas (Christie y col., 1968; Szyfres, 1982). Sin embargo, Bendixen y Blom (citados por Plant y col., 1976) encontraron que el título de aglutinación sérica tuvo una tendencia a ser más alto que el del plasma seminal, especialmente en toros con orquitis.

Según Christie y col. (1968) se debe recurrir a la prueba de aglutinación seminal cuando los títulos obtenidos por seroaglutinación y por fijación de complemento son dudosos. Por lo tanto, la aglutinación en plasma seminal debería realizarse rutinariamente, y muy especialmente en toros serológicamente negativos de centros de inseminación artificial.

De acuerdo con lo expuesto el diagnóstico de la brucelosis en el macho, debe estar basado en pruebas serológicas, examen clínico e historia del rodeo, y confirmado cuando es posible, por cultivo bacteriológico.

5. 2. Leptospirosis

Los resultados serológicos en leptospirosis deben ser evaluados conjuntamente con los datos clínico-patológicos, epidemiológicos y ecológicos, cuya obtención es factible en estudios de rodeo (Aguirre, 1981).

En este relevamiento se determinó cuales son los serovares encontrados en sueros de toros de faena. Para el serogrupo Sejroe, se observó un 32,3 % de reactores al serovar hardjo, 2 % al serovar wolffi y 46,5 % para ambos serovares con títulos \geq a 1/200.

En los sueros analizados los títulos más altos correspondieron al serovar hardjo con excepción de 6 muestras, por lo que se puede inferir que el 40 % de anticuerpos detectados para ambos serovares, corresponderían a reacciones cruzadas con el serovar wolffi. Dicha observación es válida si se tiene en cuenta que el serovar hardjo fue aislado en Argentina (Myers y Jelambi, 1975), mientras que el serovar wolffi nunca fue obtenido por aislamiento. En nuestro país Cacchione y col. (1980) informaron sobre un 63,2 % de bovinos reactores a los serovares wolffi, pomona y tarassovi en porcentajes del 61,61%, 20,26% y 10,91% respectivamente, no aportándose datos sobre el serovar hardjo, debido a que no se lo incluyó en dicho estudio. Myers y Jelambi (1975) registraron una incidencia de 45,8% para el serovar hardjo y 7,8% para el serovar pomona en distintas provincias argentinas.

En un estudio realizado en Australia con toros de matadero, se obtuvieron porcentajes de 39,3% y 14,8% para los serovares hardjo y pomona respectivamente (Ladds y col., 1973). En Brasil, Knackfuss Vaz y de Oliveira (1978) detectaron un 53,5% de toros reactores en un centro de inseminación, con predominio de los serovares sejroe y wolffi. Las leptospiras pueden causar epididimitis, vesiculitis y orquitis (Humphrey y Ladds, 1975 a, Cacchione, 1981). En este trabajo, toros que presentaron altos títulos tenían lesiones histológicas que no coinciden con las alteraciones descritas para infección leptospiral (Humphrey y Ladds, 1975 a). La falta de correlación entre los resultados serológicos y la presencia de lesiones, se debe probablemente al bajo número de observaciones. Al no haber efectuado aislamiento en distintos órganos y en general por los tipos y gran variación en las lesiones observadas, resulta muy difícil considerar a las leptospiras como causante de esas alteraciones. Es muy probable que de existir lesiones, estos microorganismos se hayan localizado en órganos como hígado o riñón, o bien si la infección es re-

ciente, no ha transcurrido el tiempo suficiente para que se instale la lesión en todos los órganos susceptibles. Ellis y col. (1986 a) han aislado el serovar hardjo (genotipo hardjo bovis) de testículo, epidídimo y vesícula seminal en toros de matadero, con bajos títulos serológicos (hasta 1/100) sin conocerse hasta el momento el efecto patológico sobre el aparato reproductor.

El serovar hardjo también ha sido aislado de hembras bovinas (Ellis y col., 1986 b y Ellis y Thiermann, 1986), de modo que dicho serovar podría estar implicado en infertilidad bovina. Estos hallazgos avalan la hipótesis sobre la probable transmisión venérea del serovar hardjo en bovinos; asimismo ponen en evidencia que en las infecciones leptospirales adaptadas al huésped, el tracto genital así como el riñón, puede ser un sitio importante para localización y persistencia del organismo en el animal portador (Ellis y col., 1986 a).

Así, en la leptospirosis puede ocurrir la transmisión venérea, ya sea por coito o inseminación artificial (Sleight y Williams, 1961; Amatredjo y Campbell, 1975; Roberts, 1979; Ellis y col., 1986 a).

Actualmente se considera que la difusión de leptospiras vía semen procesado y diluido es improbable, debido a que en centros de inseminación organizados, los toros se someten a pruebas serológicas en forma rutinaria y además las leptospiras son eliminadas por la adición de estreptomycin. Sin embargo, el peligro potencial puede existir, cuando el semen se utiliza en estado fresco o es procesado sin la adición de antibióticos o es mantenido a 5° C para ser utilizado dentro de los 2 a 4 días (Stalheim y col., 1979). Bartlett y col. (1976) recomiendan que los toros que se utilicen para inseminación artificial deben tener título negativo, consideración que no concuerda con lo establecido por Stalheim y col. (1979) quienes han sostenido que animales con títulos bajos o estables pueden ser usados como dadores de semen, después de tratarlos con estreptomycin. En toros de valor, con bajo título serológico a leptospirosis según el test de microaglutinación, se ha recomendado efectuar muestreos posteriores, aplicar la técnica de fijación de complemento, la cual demostró estar altamente correlacionada con la leptospiruria, y en circunstancias especiales, realizar la inoculación en medios de cultivo y/o animales de laboratorio, para definir el estado de portador renal.

Si bien este trabajo presenta los resultados serológicos para leptospirosis, sobre una población bovina tomada al azar en matadero y sin considerar antecedentes , se pone en evidencia un significativo número de reactores a Leptospira interrogans serovar hardjo, marcando su importancia epidemiológica. Teniendo en cuenta esta situación, debería considerarse la inclusión de este serovar en la elaboración de inmunógenos.

Sería importante continuar las observaciones en un marco más estricto, que permita conocer el estado clínico de la población a estudiar, como así también la factibilidad de efectuar estudios serológicos seriados y aislamientos bacteriológicos. De esta forma se podrían cumplir las premisas necesarias que caracterizan un estado nosológico, como son: 1º conocer el título reaccionante serológico; 2º establecer el estado clínico-patológico de la enfermedad; 3º obtener el aislamiento del agente causal. Estas pautas serían vitales para determinar la importancia de esta enfermedad en el toro.

5.3. ESTUDIOS MORFOLOGICOS

5.3.1. Medidas y pesos para toros sin alteraciones

El peso, el ancho y el largo testiculares junto con la circunferencia escrotal, son medidas que se utilizan como indicadores de la actividad reproductiva (Coulter y Foote, 1979), y su alejamiento de la media (\bar{x}) puede ser utilizado como un buen indicador de alteraciones patológicas. Para este estudio los promedios (\bar{x}) de largo testicular en las distintas categorías evaluadas, fluctuaron entre 13 cm y 13,7 cm, mientras que los promedios (\bar{x}) de ancho testicular variaron entre 7,1 cm y 7,5 cm, aumentando en relación con la edad. Estos valores difieren de los obtenidos por autores australianos (Ladds y col., 1973; Turnbull, 1977) quienes informaron sobre medidas de largo y ancho testicular inferiores a las registradas por nosotros. En dichos trabajos los valores promedio para el largo testicular fluctuaron entre un mínimo de 10,6 cm (Ladds y col., 1973) y un máximo de 12,4 cm (Turnbull, 1977) para los diferentes grupos etéreos.

Con respecto al peso testicular, el mismo aumentó en relación con la edad. En este ensayo los valores encontrados fueron inferiores a los obtenidos por Ladds y col. (1973). Las diferencias encontradas pueden ser debidas muy probablemente a que en este relevamiento no se analizaron razas índicas, las cuales fueron incluidas en los estudios australianos.

Se ha informado que la raza, la edad, el nivel nutricional, la época del año y las variaciones individuales, son factores que influyen en el tamaño testicular (Coulter y Foote, 1979).

El largo promedio (\bar{x}) de las vesículas seminales fluctuó entre 9,9 cm y 11,7 cm, para los diferentes grupos etéreos, valores éstos algo superiores a los informados por Ladds y col. (1973), quienes registraron promedios (\bar{x}) que variaron entre 6,9 cm y 10 cm para las distintas edades, en toros de matadero.

El peso total promedio (\bar{x}) de las vesículas seminales para los diferentes grupos de toros analizados, fluctuó entre 131,2 g y 183,4 g , valores éstos que superan significativamente, a aquel obtenido por Kumi-Diaka (1979) que fue de 78,5 g para toros de Nigeria. Aquí también el factor raza podría explicar las diferencias observadas. No obstante, cabe destacar que en este estudio se observaron diferencias de peso, según el gra-

do de repleción de la glándula, lo cual debería ser tenido en cuenta cuando se realizan estudios de este tipo.

5.3.2. Alteraciones Patológicas

5.3.2.1. Escroto

Las alteraciones detectadas en escroto fueron de baja frecuencia (4,6%) coincidiendo con Mosaheb y Ladds (1973), quienes examinando 550 toros faenados para detectar alteraciones genitales, informaron sobre un 4% de lesiones escrotales. Algunos autores (Galloway, 1961; Ladds y col., 1973; Turnbull, 1978), que han realizado estudios en toros procedentes de matadero, no han registrado alteraciones en escroto, mientras que otros han descrito afecciones tales como dermatitis micóticas y " Frostbite " (congelamiento) con alta incidencia en una determinada población (Faulkner y col., 1967; Kumi-Diaka y col., 1980). Los hallazgos de estos últimos autores están asociados a factores ambientales desfavorables; las descripciones de streptotrichosis fueron hechas en Nigeria y en épocas de lluvias, y el " Frostbite " en Estados Unidos, en condiciones ambientales de frío intenso. En este estudio, la totalidad de los animales provenían de áreas con buenas condiciones climáticas y además el muestreo fue realizado en época de primavera.

5.3.2.2. Prepucio

Dos casos de prolapso prepucial con fimosis y parafimosis fueron registrados en dos toros Aberdeen Angus de 4 y 7 años de edad. El prolapso prepucial es una alteración patológica en la cual el epitelio prepucial se exterioriza, sufre daño y posteriormente se edematiza, haciendo que la retracción sin ayuda se torne imposible y sea necesario el tratamiento (Long, 1969).

Dicha alteración ha sido asociada a factores de raza, de rodeo e individuales. La edad no ha sido considerada como factor asociado al prolapso, aunque se han citado casos en toros maduros y viejos. Esta afección se ha registrado con más frecuencia en razas índicas y en razas para carne sin cuernos (Donaldson y Aubrey, 1960; Long, 1969; Pearson, 1972 ; Wolfe y col. 1983). La predisposición al prolapso prepucial probablemente involucra cuatro factores anatómicos: grado de pendularidad de la vaina, largo del

prepucio, tamaño del orificio prepucial, y presencia del músculo retractor (Wolfe y col., 1983).

Se ha informado que la eversión, proceso por el cual el epitelio prepucial protruye temporariamente del orificio prepucial, es un hábito común en razas tales como Aberdeen Angus , Polled Hereford y Brahman. La eversión ha sido considerada por Donaldson y Aubrey (1960) como un factor involucrado en la etiología de postitis con prolapso resultante. Un prepucio penduloso y el tipo de forraje y maleza en donde son pastoreados los toros, pueden sumarse a la eversión y dar como resultado esta afección combinada. La correlación entre presencia o no de cuernos y eversión, no es absoluta. Esto podría depender de que los toros sin cuernos fueran homocigotas para este factor, implicando el posible rol de la genética en este proceso. Se ha sugerido que la eversión es menos común en algunos rodeos de Aberdeen Angus que en otros (Long, 1969).

También se ha citado como causa de prolapso el exceso de epitelio prepucial, que se explica por el retorno a la actividad sexual normal en casos donde se realiza cirugía. El prolapso prepucial no interfiere con el coito a menos que la porción prolapsada se traumatice. Walker (1980) informó que el prolapso prepucial es una alteración agravante por sí misma. Las abrasiones leves que sufre el prepucio prolapsado conducen a un prepucio edematoso, con riesgo de traumas más severos que llevan a la abscedación y por último fibrosis del tejido prepucial (Wolfe y col., 1983).

El tratamiento del prolapso prepucial es quirúrgico, implicando un alto costo y no asegurando el éxito en todos los casos; además debe realizarse cuando el padecimiento es reciente. Por el contrario en los casos crónicos, se debe amputar la parte afectada. Obviamente , la solución del problema en la mayoría de los casos, posiblemente sea el envío a faena, debido a la naturaleza genética de la anomalía. Según la bibliografía consultada, una medida preventiva para evitar el prolapso prepucial, sería adoptar el criterio de descartar toros con tendencia a evertir.

Alteraciones patológicas de menor importancia fueron los nódulos que se detectaron en las inmediaciones del fórnix; el estudio microscópico de los mismos no reveló lesiones de significación patológica.

5.3.2.3. Pene

La balanitis es común en el toro (Roberts, 1979). La amplia variedad de agentes, tanto patógenos como saprófitos que habitan la cavidad prepucial, hacen que a menudo sea difícil identificar los microorganismos patógenos responsables de las lesiones. En los 8 toros afectados por balanitis el examen bacteriológico resultó negativo; probablemente ello pueda atribuirse al origen vírico de las lesiones, sugerido por el tipo de reacción inflamatoria observada por microscopía (infiltración celular mononuclear y plasmocitos). Si bien se detectaron títulos serológicos a IBR en 6 de los 8 toros afectados, no se puede establecer correlación entre los resultados patológicos y serológicos, dada la variabilidad en la expresión patológica de este virus y la inespecificidad de la lesión. No se detectaron cuerpos de inclusión a la observación microscópica, pero hay que tener en cuenta la cronicidad de las lesiones. El virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) ha sido considerado por algunos autores como causa frecuente de balanitis en toros de inseminación artificial (Huck y col., 1971; Majewska y col., 1980; Schudel, 1981). Parece ser que la balanitis de origen vírico es más severa en toros viejos, atribuyéndose dicha correlación a la profundidad de las criptas prepuciales (Huck y col., 1971). En nuestro caso, no se observaron diferencias en el grado de severidad de las lesiones entre las distintas categorías ; solamente se ha registrado un mayor porcentaje de afectados por balanitis en la categoría toros viejos. Las consecuencias de las balanitis víricas en el toro pueden resultar en estenosis y adherencias, debidas a infecciones bacterianas secundarias (Mc Kercher, 1969); si en cambio se consideran los efectos sobre la población bovina, pueden resultar en abortos y muertes perinatales, ya que es posible la transmisión de ciertos virus por semen. Se ha establecido que la eliminación del virus HVB-1 puede prolongarse por más de 570 días después de las manifestaciones clínicas (Schudel, 1981). Considerando que este es un medio apropiado para preservar virus, y que la acción de los antibióticos sobre estos agentes es nula, deberían extremarse las medidas de profilaxis en toros de centros de inseminación artificial, si se sospecha de balanitis vírica.

Los remanentes de frenillo prepucial fueron detectados en el 2% de los toros de este ensayo; este porcentaje es similar al descrito por Mosaheb y Ladds (1973) quienes registraron esta afección en el 1,2% de 550 to-

ros faenados.

Estos remanentes serían los denominados frenillos prepuciales persistentes de grado leve (Ashdown, 1962; Mosaheb y Ladds, 1973).

El frenillo generalmente se rompe cuando se separan el pene y el prepucio. Una falla en la completa separación de la banda de tejido conectivo produce un frenillo persistente, lo que causa marcada inclinación ventral de la porción libre del pene cuando alcanza la erección. Esta alteración se pone de manifiesto cuando los toros jóvenes comienzan la masturbación o intentan la monta (Wolfe y col., 1983).

Las investigaciones anatómicas realizadas han sugerido que el frenillo propiamente dicho persiste en los puntos donde es atravesado por un vaso y se ha considerado como una anomalía anatómica de baja significación (Ashdown, 1962) . Parece ser que la condición frenillo persistente es heredable (Saunders y Ladds, 1978) y más común en razas tales como Shorthorn y Aberdeen Angus (Carroll y col., 1964; Pearson, 1972). Los remanentes de frenillo generalmente no están vascularizados. Las observaciones histológicas realizadas aquí, corroboraron la falta de vasos centrales descrita por otros autores en los casos de remanentes temporarios.

Nódulos de apariencia papilomatosa de pocos milímetros de diámetro fueron detectados en dos animales; el cuadro histológico correspondió a una reacción inflamatoria crónica local de tipo proliferativo, con necrosis superficial. Esta puede ser considerada como una variable más severa de las alteraciones observadas en los 8 casos de balanitis ya descritos.

La presencia de pequeñas lesiones cicatrizales encontradas en el glande, son indicativas de la continua exposición de esta zona al trauma. Los animales afectados por esta alteración pertenecían a la categoría viejos, observación que difiere con lo enunciado por Mosaheb y Ladds (1973) quienes sólo encontraron lesiones de este tipo en la categoría toros jóvenes. Si bien estas anomalías fueron leves, en la bibliografía consultada se describe que en aquellos casos donde los toros se laceran y no tienen reposo suficiente, la lesión no cicatriza y cualquier excitación sexual durante el período de restablecimiento, puede separar los tejidos de granulación formados, causando posterior sangrado y prolongar el tiempo necesario para la resolución (Pearson, 1972).

Un caso de fístula uretral fue registrado en este relevamiento, lo cual refleja la baja frecuencia de esta alteración, observación que coincide con

Carroll y col. (1963) quienes estimaron que las fístulas uretrales son de muy baja incidencia y no se les debe atribuir significación patológica en el proceso reproductivo. Sin embargo, Walker (1972) sostiene que si la fístula se localiza más allá de una pulgada a partir del extremo del pene, puede ser causa de bajos porcentajes de preñez, aunque el coito y el semen se consideren normales.

Las sufusiones observadas en el glande parecerían responder a origen traumático, dado que no estuvieron acompañadas de respuesta inflamatoria.

La presencia de melanina en la mucosa peneana, se considera un hallazgo no patológico, común en esa localización y asociado a la raza Aberdeen Angus.

5.3.2.4. Testículos

Las adherencias entre las capas parietal y visceral de la túnica vaginal son comunes (Humphrey y Ladds, 1975 a). En este estudio un 30% de los toros estuvo afectado por esta alteración, mientras que para autores australianos los porcentajes oscilaron entre 11,4% y 96,9% (Galloway, 1961; Ladds y col., 1973). Los hallazgos aquí registrados, referidos a una mayor frecuencia de aparición de adherencias testiculares en toros viejos, coinciden con estos autores. Ladds y col. (1973) informaron que sobre un total de 550 toros analizados, hubo predominio de adherencias unilaterales, hecho que también fue corroborado en este estudio. Las adherencias finas, leves y focales, principalmente confinadas a la región de la cola del epidídimo, se encuentran más a menudo en animales jóvenes y no tienen importancia funcional (Mc Entee, 1958). Sin embargo, las adherencias fibrosas, severas y extensivas, determinadas por trauma, edema, u otras causas, pueden llegar a producir infertilidad por la reacción inflamatoria producida cuando las mismas se forman, donde puede suprimirse la espermatogénesis normal (Galloway, 1961).

El 55,9% de los animales mostró cambios degenerativos en sus testículos, predominando las lesiones de grado leve. El 61,5% de los toros afectados era mayor de 7 años. La edad parece ser un factor de suma importancia en el desarrollo de esta alteración, aunque la patogénesis no ha sido esclarecida totalmente (Jubb y Kennedy, 1973). Si bien la degeneración de las células germinales es un hecho de la espermatogénesis normal, existe un incremento de dicha alteración en toros viejos, comparados con toros jóvenes.

Collins y col. (1962) informaron sobre la declinación de la fertilidad a medida que los toros envejecían. Después de los 8-10 años de edad, los toros pueden desarrollar degeneración testicular con mucha rapidez en cualquier momento.

Tanto las glándulas de consistencia normal como aquellas que presentaron consistencia disminuida a la palpación, evidenciaron cambios degenerativos a la observación microscópica.

Larson (1980) ha definido a la degeneración testicular como la falla completa o parcial de la espermatogénesis normal del epitelio. Prescindiendo de la causa de la alteración en la espermatogénesis, la reacción del epitelio seminífero es similar y la variación solo ocurre en extensión y grado (Humphrey y Ladds, 1975 a).

Los testículos sufren procesos de autólisis con mucha rapidez, hecho que puede dificultar la interpretación diagnóstica en los casos de alteraciones degenerativas; por ello cabe destacar que el procesamiento de estas glándulas debe efectuarse inmediatamente del sacrificio del animal.

La diferenciación histológica entre degeneración e hipoplasia es a menudo difícil (Roberts, 1979). Macroscópicamente, la degeneración testicular ha sido caracterizada por: tamaño disminuido (a veces luego de un tamaño inicial normal), consistencia alterada, de modo tal que el testículo no sobresale a la sección, eventual fibrosis, calcificación del parénquima y engrosamiento de la túnica albugínea (Jubb y Kennedy, 1973; Humphrey y Ladds, 1975 a). Los testículos con degeneración son atróficos y más blandos y pequeños que los normales mientras que en los casos crónicos los testículos son firmes debido a fibrosis y puede haber deposición de calcio en las zonas periféricas a la rete testis (Roberts, 1979). Los testículos hipoplásicos, a menudo no observados hasta después de la pubertad, pueden ser tan pequeños como 1/4 ó 1/3 de su tamaño normal y su consistencia se aproxima a la normal (diferiéndolo en este punto de la degeneración). Por último, el testículo hipoplásico sobresale al seccionarlo (Humphrey y Ladds, 1975 a).

Las diferencias entre estas dos alteraciones puede así, bajo algunas circunstancias, ser sólo de definición o de causa subyacente, y el diagnóstico debe ser basado sobre la historia del caso, hallazgos clínicos y evaluación de muestras repetidas de semen.

La degeneración testicular puede producirse por las siguientes causas: edad avanzada, elevación de la temperatura testicular por factores locales o ambientales; congelamiento, acción de diversos virus, bacterias, hongos y parásitos; ingestión de naftalenos clorados; administración experimental de clorhidrato de cadmio, deficiencia de Vitamina A, como secuela de lesiones obstructivas del sistema excretorio (aplasia segmentaria, espermiostasis, etc.) o de biopsia testicular y reacciones autoinmunes. Las neoplasias, en determinadas ocasiones, al obstruir el sistema canalicular del testículo, causan estasis de espermatozoides y secreciones testiculares provocando degeneración del parénquima (Roberts, 1979). Este hecho fue corroborado en este ensayo, en un toro que había presentado un tumor de células de Sertoli.

Los cambios degenerativos pueden ser leves, moderados o graves y lesionar el testículo en forma uni o bilateral. Las degeneraciones unilaterales aparecen secundariamente a lesiones locales y las bilaterales se deben a procesos mórbidos generalizados. En este ensayo predominaron las lesiones unilaterales en los testículos analizados. Consideramos la posibilidad de que esta observación se deba al hecho de haber tomado muestras de sólo un área del tejido testicular.

En este relevamiento se detectó un 8% de toros con mineralización testicular. La mineralización sigue a la espermiostasis y degeneración epitelial y generalmente su localización es intratubular, aunque en las degeneraciones agudas el calcio puede también estar depositado en el estroma. La degeneración crónica y atrofia testicular, especialmente en toros viejos, se caracteriza por fibrosis testicular con calcificación; ésta es imposible de palpar, sin embargo es detectable por radiografía. Barker (1956) informó que un 25% de 158 toros de matadero, revelaron deposición cálcica al examen radiográfico. No se ha registrado presencia de bacterias en túbulos calcificados (Galloway, 1961), Así, las muestras procesadas en este ensayo, resultaron negativas al examen bacteriológico. Los grados más extensivos de calcinosis, ocasionalmente progresan hasta compromiso testicular completo con degeneración generalizada o inflamación. La mineralización testicular es más a menudo bilateral y su ocurrencia parece incrementar con la edad (Galloway, 1961; Ladds y col., 1973). Para este relevamiento, las lesiones unilaterales fueron más frecuentes para todas las categorías, y los toros viejos los más afectados. Fraser y Wilson (1966) consideraron que la calcificación se,

establece por vía de la saponificación, con formación de gránulos en las masas espermáticas. Estos autores, han descripto cuatro estadíos en el desarrollo de la calcinosis: descamación, coalescencia del material descamado, hialinización y subsecuente calcificación de la masa hialinizada. Algunos autores han considerado que esta anomalía es común en climas tropicales (Ladds y col., 1973; Humphrey y Ladds, 1975. e; Turnbull, 1977; Roberts, 1979). Sin embargo, se ha informado sobre calcinosis en zonas templadas. Turnbull (1977) ha sostenido que la baja incidencia (3,62%) de calcificación testicular obtenida en sus estudios, puede haberse debido a que los animales procedían de regiones más frías. El porcentaje de calcinosis detectado en los toros de este ensayo, refleja la influencia de la edad en dicha alteración, ya que el 86,6% de los animales afectados, pertenecía a las categorías adultos y viejos.

Teniendo en cuenta las influencias térmicas citadas por distintos autores, deberían efectuarse investigaciones sobre esta anomalía en áreas ganaderas del norte del país, a los efectos de realizar estudios comparativos que permitan esclarecer las posibles etiologías, así como suministrar información casuística en razas tropicales.

El caso registrado como atrofia testicular a la observación macroscópica, fue confirmado por examen histológico. El cuadro de atrofia estaba acompañado por degeneración tubular. Debido a la observación de gran cantidad de túbulos degenerados y áreas de fibrosis intertubular, se infiere que este animal estuvo afectado por degeneración de tipo crónico, de ahí el pequeño tamaño de la glándula. Los conceptos enunciados anteriormente sobre degeneración testicular, son válidos para este caso.

Los toros afectados por orquitis fueron 7. Un solo caso fue diagnosticado por macroscopía, correspondiendo a una orquitis granulomatosa. Este toro resultó reactor positivo a brucelosis con un título de 1/200 incompleto para la prueba lenta en tubo. El tipo de reacción inflamatoria, la presencia de aglutininas brucélicas en suero y la ausencia de bacterias aerobias, indicarían infección por Br. abortus a pesar del fallido aislamiento. Si bien este animal también presentó título serológico de 1/25600 para leptospirosis, se descarta esta posible etiología, debido a que las leptospiras producen una respuesta de tipo intersticial (Sleight y col., 1964).

Las inflamaciones más significativas de los testículos tienen un origen bacteriano y se desarrollan por vía hematógena o por progresión retró-

grasa a través de los conductos deferentes, desde las glándulas accesorias infectadas. En este último caso la orquitis va precedida de epididimitis siendo ésta la causa más frecuente de inflamación testicular. Probablemente esta ha ocurrido en los cuatro toros con necrosis en el epitelio germinal que manifestaron severa epididimitis. Estos animales tenían títulos aglutinantes a brucelosis que variaron entre 1/50 y 1/100 y en 2 de ellos se aisló Er. abortus de sus epidídimos. Debe mencionarse que los toros presentaron alteraciones macro y/o microscópicas en testículos y/o epidídimos y que dicha bacteria fue aislada en 2 oportunidades, a pesar de los bajos títulos serológicos. Este hecho, probablemente podría explicarse, por la cronicidad del proceso inflamatorio. Cabe destacar, que el examen histológico también reveló lesiones inflamatorias en sus vesículas seminales, lo cual sugiere la tendencia a la generalización de la infección por este microorganismo, en distintos órganos del aparato reproductor. La orquitis necrótica es característica de brucelosis. Brucella abortus es la causa más corriente de orquitis en bovinos en áreas infectadas; también la cepa 19 de este microorganismo es capaz de producir la lesión (Lambert y col., 1964; Jubb y Kennedy, 1973).

Existen otros microorganismos que han sido citados como causas de orquitis, entre los cuales se encuentran: cepas del virus de la IBR y la IPV (Kenney, 1971); enterovirus (Bouters, 1964); papova y reovirus (Branny y Zembala, 1971) virus de la parainfluenza (PI₃) (Deas y col., 1966); Streptococcus; Staphylococcus; Haemophilus; E. Coli; Salmonella; Mycobacterium (Humphrey y Ladd, 1975 a); Corynebacterium pyogenes; Actinomyces bovis (Kimball y col., 1954); Leptospira pomona en forma experimental (Sleight y col., 1964); Mycoplasma bovis genitalium (Parsonson, 1970; Ernó y Blom, 1972) y Chlamydia, (Storz y col., 1968); entre otros.

Las infecciones que producen orquitis o epididimitis tienen un efecto directo sobre los testículos debido a la reacción inflamatoria, que produce fiebre, edema, congestión, interferencia circulatoria, isquemia, e incluso infarto, debido al grosor y dureza de la túnica albugínea que restringe la dilatación normal del parénquima testicular (Roberts, 1979).

Los 6 toros que tenían orquitis intersticial revelaron lesiones caracterizadas por infiltración linfocítica y aumento del tejido conectivo intersticial.

Se han descrito pequeños infiltrados mononucleares, en adyacencia a

los túbulos seminíferos, túbulos de la rete testis o conductos eferentes de testículos normales. También se ha informado que se produce un incremento significativo de linfocitos y plasmocitos intersticiales con la edad avanzada, así como aumento del tejido conectivo intersticial. Dichas observaciones coinciden con lo observado aquí, ya que 22 toros adultos y viejos estaban afectados por aumento del tejido conectivo intertubular y/o infiltración linfoplasmocitaria. La presencia de células plasmáticas en testículos ha sido explicada por una exposición antigénica inicial post-puberal y reexposición a mayor edad; la respuesta celular podría estar estimulada por los cambios degenerativos seniles (Humphrey y Ladds, 1975 b).

En este estudio se detectó por macroscopía sólo un toro con orquitis, elevándose a 7 el número de toros afectados, cuando el análisis histológico fue efectuado. Esta observación indicaría que no es correcto considerar a la orquitis como alteración genital de baja frecuencia, ya que este hecho puede responder a error de metodología diagnóstica.

Así, Bellenger (1971) encontró un solo caso de orquitis sobre 54 toros analizados. El autor no menciona haber realizado estudios microscópicos. Los casos de orquitis encontrados en este relevamiento, junto con los resultados serológicos obtenidos para brucelosis, y la bacteriología negativa a Br. abortus a partir de tejido testicular, podrían sugerir que si bien existe la infección y el tropismo genital, no sería el testículo el sitio de predilección de la bacteria. Los aislamientos realizados aquí, fueron obtenidos de epidídimos y de vesícula seminal. Plant y col. (1976) han sostenido que la localización en órganos genitales de Br. abortus sería en el siguiente orden: vesícula seminal, epidídimo y testículo. Esto puede deberse a las diferentes concentraciones de eritritol en los distintos tejidos (Keppie, 1964).

Disturbios circulatorios como hidrocele (edema) y hemorragia testicular, fueron registrados en dos toros. Ladds y col. (1973) detectaron sobre 550 toros revisados, 3 con edema testicular asociado a lesiones inflamatorias. En nuestro caso el toro con edema no reveló una respuesta inflamatoria aguda, y sí infiltrado mononuclear.

Un toro de este ensayo presentó una hemorragia en el parénquima testicular, considerada de origen traumático.

Se ha mencionado que el trauma parece ser la causa más probable del edema testicular (Humphrey y Ladds, 1975 a). Sin embargo, otras causas ta-

les como infecciones vecinas, tumores y escitis, han sido involucradas en la etiología del hidrocele (Jubb y Kennedy, 1973).

Un tumor de células de Sertoli fue la única alteración de naturaleza neoplásica detectada en este estudio.

Los tumores testiculares son poco frecuentes en la mayoría de los animales domésticos, excepto en el perro, lo que puede explicarse fundamentalmente por 2 razones: probable predisposición genética en los perros, y mantenimiento de perros enteros hasta la senilidad (Derivaux, 1976; Roberts, 1979).

Los neoplasmas testiculares primarios son bastante raros en toros y no están asociados a cambios hormonales (Humphrey y Ladds, 1975 a). Se ha informado que los tumores de células intersticiales son los más frecuentes en toros, especialmente en la raza Guernsey (Mc Entee, 1958, 1959; Spoenberg, 1955). Los mismos son de color anaranjado - ceniza, nodulares, de consistencia blanda y de forma esférica.

Bunn y Mc Entee (1964) han sostenido que la producción de espermatozoides y la fertilidad de toros con tumores testiculares de más de 1 cm de diámetro eran significativamente menores que en los no afectados o en los que tenían tumores pequeños.

En toros con tumores intersticiales grandes hubo que descartar el 30% de sus eyaculados por ser inaptos para inseminación artificial, mientras que en los normales de control, sólo se descartó el 2%. Así, los tumores grandes producen degeneración testicular, debido probablemente a la compresión ejercida sobre los canaliculos seminíferos adyacentes. observación realizada en este ensayo (Roberts, 1979).

Escasa es la información sobre seminomas bovinos. Humphrey y Ladds (1975 a) realizaron una revisión bibliográfica sobre alteraciones testiculares en toros, y mencionaron pocos casos de seminomas.

Los tumores de células de Sertoli, aunque de menor incidencia que los tumores de células de Leydig, fueron descritos por algunos autores. Así, Ladds y col. (1973) informaron sobre sólo un 0,9% de toros de matadero afectados por tumores de células de Sertoli, sobre un total de 550 revisados. Posteriormente, Ladds y Saunders (1976) efectuaron un estudio con 1598 toros de faena, de los cuales 6 (0,3%) manifestaron la misma anomalía. Dichos tumores fueron clasificados originalmente como hiperplasia, indicando este hecho, las dificultades en la diferenciación de estos procesos.

Los tumores de células de Sertoli se presentan generalmente en animales viejos, producen aumento de volumen testicular y aparecen más frecuentemente en el lado derecho (Jubb y Kennedy, 1973; Moulton, 1978), observaciones que coinciden con nuestros hallazgos, ya que el toro afectado tenía 9 años y la lesión fue registrada en la gónada derecha, alcanzando ésta un peso de 756 g .

Para este animal no se detectaron signos de feminización; sin embargo Nigam (1975) encontró en un toro con tumor de células de Sertoli un marcado incremento en el tamaño de los pezones rudimentarios. El efecto feminizante, se debe al alto contenido de estrógenos, y parece ser que existe una asociación entre el tamaño de la masa tumoral y la cantidad de estrógenos elaborados (Jubb y Kennedy, 1973). En los caninos, el estrogenismo se manifiesta o bien por atracción sexual hacia otros machos, o bien por modificaciones tales como: reducción de la libido, distribución de la grasa corporal semejante a la de la hembra, atrofia pilosebácea que da origen a alopecia simétrica, atrofia de testículos y pene, desarrollo mamario, tumefacción del prepucio, e hiperplasia o metaplasia escamosa de la próstata (Jubb y Kennedy, 1973; Moulton, 1978).

Generalmente el tumor está incluido en una túnica albugínea tensa. A la sección la superficie se abulta, es blanquecina-amarillenta ó grisácea y firme. La firmeza se debe a la abundancia de estroma , mientras que los otros dos tipos de tumores testiculares, tienen estroma en poca cantidad (Moulton, 1978; Roberts, 1979; Soonenberg, 1986).

La caracterización microscópica del tumor de células de Sertoli efectuada en la bibliografía consultada, coincide con el cuadro histológico del toro de este ensayo (Jubb y Kennedy, 1973; Nigam, 1975; Moulton, 1978); sin embargo aquí no se observaron las concreciones eosinofílicas intratubulares, detalladas en el trabajo de Ladd y Saunders (1976). En cambio , se han detectado pequeños "islotos" intratubulares, constituidos por células no neoplásicas, rodeadas por material eosinofílico. Estos islotos probablemente se han originado en el proceso de proliferación, quedando atrapados restos de membranas basales con las citadas células en su interior.

5.3.2.5. Epidídimos

En este relevamiento se registró un 10,5% de adherencias epididimarias. Una ocurrencia de 6,2% fue registrada en un trabajo realizado por Turnbull (1977) en Australia. En general, los toros jóvenes tienen pequeño número de adherencias principalmente confinadas a la región de la cola del epidídimo (Galloway, 1961). Mc Entee (1958) ha sostenido que las adherencias entre

el epidídimo y la túnica son comunes y no tienen relación aparente con la fertilidad. Carroll y col. (1963) encontraron comúnmente adherencias débiles, finas, entre la cola del epidídimo y el polo distal del testículo. Para vez esto fue asociado con pobre calidad seminal, a menos que el testículo estuviese comprometido. En este relevamiento, todos los toros con adherencias epididimarias (9 toros) también presentaban adherencias testiculares y en tres se detectó epididimitis.

La presencia de tipos celulares con apariencia de "células gigantes" en el lumen de los túbulos epididimarios, fue registrada en 31 toros de este estudio, que mostraron cambios degenerativos en sus epidídimos. Estas células parecen resultar de divisiones citoplasmáticas incompletas de los espermatozoides. Células gigantes han sido halladas en semen y descritas en casos de neoplasia testicular y regeneración (Gledhill, 1973; Roberts, 1979).

En general, los porcentajes de epididimitis en bovinos son bajos . Para este estudio , el porcentaje de toros afectados por lesiones macroscópicas fue del 4,6% mientras que por estudio histológico dicho porcentaje se elevó a 8,1%. Según notificaron Humphrey y Ladds (1975 a), la incidencia varía para los diferentes autores de acuerdo al tipo de estudio realizado. Así, por examen clínico Van der Sluis detectó un 0,3% de epididimitis al revisar 828 toros con sospecha de infertilidad y Chenoweth encontró la afección en el 0,1 % de 803 toros examinados (citados por Humphrey y Ladds, 1975 a). Estudios similares fueron efectuados por Carroll y col. (1963) quienes informaron sobre un 0,4% de incidencia, para 10940 toros examinados clínicamente.

Blom y Christensen analizaron 2000 toros en un muestreo al azar, y por estudios post-mortem obtuvieron una incidencia del 0,1% (citados por Humphrey y Ladds, 1975 a). Galloway (1961) en Australia revisó 325 toros faenados y halló un porcentaje del 2,4% con epididimitis. Luego Ladds y col. (1973) realizaron un relevamiento en 550 toros de frigorífico, registrando por análisis macro y microscópico, un 1,6% de epididimitis. Ball y col. (1968) diagnosticaron por examen histopatológico un 73% de toros afectados por epididimitis sobre 78 evaluados. De todos los genitales analizados por estos últimos autores, el epidídimo fue el órgano que presentó mayor número de reacciones inflamatorias, distribuyéndose las mismas, indistintamente en todas las regiones anatómicas. En la bibliografía consultada se describen tanto epididimitis de tipo granulomatoso (Ladds y col., 1973), como de tipo intersticial (Ball y col., 1968). En este ensayo, 4 de los 7 toros afectados por lesiones inflamatorias en sus epidídimos, revelaron reaccio-

nes granulomatosas, mientras que en los 3 restantes, la epididimitis fue de tipo intersticial. Las epididimitis de tipo granulomatoso, no deben ser confundidas con los granulomas espermáticos no infecciosos. Estos son más frecuentes en los becerros rumiantes que en el toro y su localización es comúnmente en la región de los túbulos eferentes. Estos túbulos ("ductuli aberrantes") a veces son ciegos y los espermatozoides migran dentro de los mismos, sufren degeneración y escapan al tejido intersticial, produciendo el granuloma, semejante al de tuberculosis. El ácido micólico que contienen los espermatozoides es el responsable de la lesión. Las células espermáticas, se rodean de histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y células gigantes tipo Langhans (Jubb y Kenney, 1973; Roberts, 1979; Spoonenberg, 1985).

Según Humonrey y Ladd (1978 a) la epididimitis se origina principalmente por diseminación de la infección en el pasaje gènito-urinario, menos frecuentemente por metástasis hematògena y rera vez por trauma. La cole del epidídimo es más frecuentemente afectada por agentes infecciosos (Roberts, 1979). Los agentes causales de epididimitis son los mismos que se han citado en la etiología de las orquitis. El curso es variable. El estado agudo en algunos casos, puede ser seguido por formación de abscesos; a veces se produce perforación con periorquitis y peritonitis. El pronóstico de las epididimitis graves o moderadas es malo porque hay obstrucciones que impiden la descarga de los espermatozoides. Una vez obstruido el epidídimo, no hay cura.

La presencia de infiltrado en el intersticio epididimario, tanto en toros jóvenes como en toros viejos, podría obedecer a causas similares a las ya expuestas en el caso de los testículos.

Al igual que en otros trabajos realizados, la frecuencia de aparición de aplasia segmentaria del ducto mesonéfrico, detectada en este relevamiento fue muy baja, ya que se diagnosticó solo un caso de hipoplasia de cole epididimaria. La alteración fue corroborada microscòpicamente. Los porcentajes registrados por la bibliografía mundial para esta anomalía han sido: 0,59% hasta 1,18% (Blom y Christensen), 5% y 1,7% para toros infértiles y normales respectivamente (Van der Sluis) (citados por Roberts, 1979). La aplasia o hipoplasia de la cole del epidídimo es atribuible a la aplasia segmentaria del conducto mesonéfrico, y ha sido encontrada en numerosas razas. Se considera que en dicha alteración está involucrado un gen recesivo autosómico (Konig y col., 1972).

La mayoría de los casos son unilaterales y puede faltar el cuerpo, la cola, todo el epidídimo e incluso una parte de todo el conducto deferente.

El lado afectado fue el izquierdo, aunque según lo informado por Roberts (1979), el segmento faltante corresponde generalmente al lado derecho. Sin embargo Mc Entee (1958) detectó aplasia segmentaria de cabeza y cola epididimaria izquierda, en un animal de 10 años de edad, sobre 147 examinados. En proximal del segmento faltante, pueden desarrollarse espermatocelos y/o granulomas, sobre todo en toros viejos (Roberts, 1979). Este autor sostiene que en ciertas ocasiones el testículo es atrófico. Debido a la posible naturaleza hereditaria de la aplasia segmentaria del ducto mesonéfrico, deberían descartarse los machos afectados que presentan a la palpación una cola epididimaria pequeña o ausencia de la misma.

La cola epididimaria trilobular que se observó en un toro podría tratarse de una malformación congénita, dado que no se observaron cambios microscópicos que indicaran alguna alteración.

La falta de significación en el análisis estadístico, entre las variables edad y alteraciones encontradas, podría deberse al bajo número de observaciones realizadas.

5.3.2.6. Vesículas Seminales

Así como los testículos, también las vesículas seminales pueden sufrir lesiones degenerativas (Roberts, 1979). Si se tiene en cuenta que 30 sobre 95 toros estaban afectados por estas alteraciones y que el 63,3 % de ellos eran mayores de 7 años, se puede deducir que aquí al igual que en los testículos, el efecto de la edad es de gran significación en el desarrollo de estas alteraciones.

Por examen macroscópico fueron diagnosticados 10 casos de vesiculitis, los que fueron corroborados microscópicamente. Otros 5 casos fueron diagnosticados sólo por microscopía, sumando un total de 15 toros (15,8%) afectados por lesiones en sus vesículas seminales. La incidencia registrada para las vesiculitis, varía considerablemente, dependiendo del criterio adoptado para definir tal afección. Así, Mc Entee (1958) no encontró vesiculitis por estudio post-mortem de 147 toros; Carroll y col. (1963) registraron un 2,5% de glándulas afectadas al revisar clínicamente 7.359 toros. Bagshaw y Ladds (1974 a) hallaron un 9% de lesiones sobre 521 toros de matadero, estableciendo el diagnóstico al examen post-mortem y luego la corroboración histológica, mientras que Ball y col. (1968) informaron sobre

49% de lesiones de acuerdo con el análisis microscópico. Lo expuesto demuestra que sólo la microscopía puede llegar a detectar un alto porcentaje de toros con lesiones inflamatorias en sus vesículas seminales; esto obviamente incluye lesiones de distinta severidad, no comprometiendo muchas de ellas la funcionalidad de las glándulas.

Brucella abortus y Corynebacterium bovis fueron los únicos microorganismos aislados en 2 casos de vesiculitis.

Agentes tales como enterovirus, el virus de la IBR, virus semejantes a los del grupo papova y reovirus, Chlamydia, Mycoplasma bovis genitalium, Corynebacterium pyogenes, Streptococcus, Stafilococcus, Escherichia coli, Proteus, Pseudomona aeruginosa, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium paratuberculosis y Nocardia entre otros, han sido aislados de casos de vesiculitis seminal (1974 b).

Corynebacterium pyogenes parece ser el microorganismo más comúnmente aislado de vesículas seminales (Mc Enter, 1962; Galloway, 1964). Se ha informado que en las vesiculitis crónicas las investigaciones bacteriológicas son generalmente negativas, hecho que concuerda con lo experimentado aquí, ya que las reacciones fueron en su mayoría de tipo crónico y en sólo 2 casos se logró aislamiento (Ball y col., 1964; Weiss, 1964; Bagshaw y Ladds, 1974 a).

De los 15 toros con vesiculitis, el 86,6% evidenció títulos a brucelosis, que oscilaron entre 1/25 y 1/200 (incompleto) para seruaglutinación, sugiriendo que en áreas infectadas como las nuestras, Br. abortus es probablemente la causa más importante de vesiculitis.

Bendixen y Blom (citados por Plant y col., 1976) informaron sobre 30 toros con títulos positivos a Br. abortus en el suero y plasma seminal. En más del 50% de los mismos se aisló dicha bacteria por inoculación de semen a cobayos. Por el contrario, en este ensayo la búsqueda de Br. abortus por inoculación en cobayos resultó negativa en todos los casos.

Las vesiculitis por Br. abortus se caracterizan por una reacción fibrinopurulenta con tendencia a la necrosis y calcificación; doce toros de este ensayo que tenían vesiculitis y títulos a brucelosis, no presentaron el tipo de reacción que corresponde a lo generalizado para brucela, observándose en la mayoría de los casos, lesiones de tipo intersticial no supurativas. Es probable, que la razón de las reacciones agudas y severas en casos de vesiculitis a Br. abortus, se deba a que en las vesículas seminales esta bac-

teria, utilizando como sustrato el eritritol, encuentre condiciones ambientales favorables para su multiplicación e invasión (Keppie, 1964).

Para estos 12 toros las alternativas serían o que la bacteria no se instaló en sus vesículas o bien que el proceso fue resuelto quedando solamente la presencia de respuesta intersticial, situación ésta más difícil de explicar por la falta de lesiones cicatrizales de importancia.

Los toros con vesiculitis pueden tener otro foco inflamatorio en cualquier otro órgano del aparato reproductor (Bell y col., 1968).

Así, para este relevamiento sobre un total de 15 toros afectados por vesiculitis, 8 presentaron orquitis y epididimitis; 7 de estos 8 toros tenían títulos a brucelosis. Esta última observación concuerda con Derivaux (1976) quien ha sostenido que la epididimitis y la orquitis generalmente acompañan a las vesiculitis de origen brucelósico.

En este ensayo la bacteria aislada, perteneciente al género Corynebacterium, fue tipificada como especie bovis. El toro del que se aisló dicha bacteria fue reactor positivo a brucelosis, lo que no descartaría la posibilidad de una infección mixta de las glándulas, con fallido aislamiento de Br. abortus.

Como fue expuesto en lo referido a micoplasmosis, el cultivo de las vesículas seminales afectadas por lesión macro y/o microscópica resultó negativo a Mycoplasma bovigenitalium en todas las glándulas procesadas. Al-Aubaidi y col. (1972) han descripto una infección natural a M. bovigenitalium en un toro de un centro de inseminación artificial, con vesiculitis y epididimitis. Veinte toros, evaluados al azar, de este mismo centro, resultaron negativos al cultivo de dicho microorganismo.

Se ha informado sobre baja frecuencia de aislamiento en vesículas seminales de toros de inseminación (Fish y col., 1985).

Bagshaw y Ladds (1974 a), en coincidencia con este trabajo, no aislaron mycoplasmas de vesículas seminales de toros de matadero.

Las vesiculitis a mycoplasmas pueden o no ser detectadas al examen clínico. La existencia al tacto de cambios de tamaño y adherencias, fueron descriptas por algunos autores (Ernø, 1974; Personson y col., 1974). Sin embargo, Al-Aubaidi y col. (1972) y Hall y Mc Entee (1981) no detectaron lesiones macroscópicas en la infección por M. bovigenitalium. Fish y col. (1985) no han encontrado correlación entre los aislamientos de mycoplasmas y los análisis histopatológicos de órganos genitales realizados en toros de inseminación artificial en Canadá. En contraposición, otros autores han informado

que los cuadros histológicos correspondientes a vesiculitis por mycoplasmas, se caracterizan por acúmulos de eosinófilos, linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, junto con degeneración hialina de las paredes de los vasos sanguíneos y fibrosis de los tejidos (Al-Aubaidi y col., 1972; Afshar, 1975; Hall y Mc Entee, 1981). La presencia de abundante cantidad de eosinófilos en los tejidos infectados por mycoplasmas podría explicarse por lo siguiente: parece ser que estos microorganismos que actúan constantemente como antígenos locales inducen la formación de anticuerpos. Así, de la unión antígeno-anticuerpo se formarían complejos precipitados, que los eosinófilos fagocitarían (Hall y Mc Entee, 1981). Las descripciones antedichas no coinciden con los análisis histológicos aquí efectuados.

Mc Lean (1959) ha sostenido que las vesículas seminales son afectadas más frecuentemente que los testículos y epidídimos, observación que coincide con los resultados de este ensayo. Asimismo, Roberts (1979) ha considerado que de todas las glándulas reproductivas accesorias, la vesícula seminal es la que presenta más frecuentemente lesiones inflamatorias.

La infección de las vesículas seminales puede originarse por vía hematógena, o bien ascendente desde el prepucio, o descendente, debida a ampullitis, epididimitis u orquitis. De acuerdo a Larson (1980) los casos de transmisión retrógrada son el resultado de contaminación uretral durante la actividad homosexual. En nuestro relevamiento la frecuencia de alteraciones inflamatorias fue mayor en toros mayores de 7 años; por el contrario Mc Entee (1958) sostiene que de acuerdo con su casuística las vesiculitis son raras en toros adultos.

En el diagnóstico clínico de vesiculitis seminal se debería tener en cuenta lo siguiente: 1) aumento de tamaño de una o ambas glándulas, 2) pérdida de la estructura lobular, 3) dolor a la palpación, 4) exudado purulento en semen. Aunque varios autores han considerado la presencia de pus en semen como una de las manifestaciones de vesiculitis (Mc Lean, 1959; Carroll y col., 1963; Ball y col., 1964; Galloway, 1964; Bagshaw y Ledds, 1974 a), Roberts (1979) ha informado que la presencia de leucocitos en el semen puede provenir de otras partes del tracto genital incluido el prepucio, de modo que su presencia no confirmaría el diagnóstico de vesiculitis. Si bien en este ensayo el examen fue realizado sobre animales sacrificados, la presencia de pus fue evaluada al seccionar las glándulas. En nuestro estudio, la asimetría de las vesículas seminales resultó una observación

frecuente; sin embargo, el estudio histológico de muchas de éstas no reveló lesiones. Por lo tanto, cuando en la práctica rural, se realiza el examen de los toros por palpación rectal, la sola detección de diferencia de tamaño entre ambas vesículas, no es indicativo de alteraciones inflamatorias. Esto, debería considerarse al realizar el tacto rectal para no llegar a diagnósticos erróneos.

Bagshaw y Ladds (1974 a, 1974 b) encontraron cuerpos basofílicos de hasta 100 μ en las vesículas con cambios degenerativos. Tres toros de este ensayo evidenciaron al análisis histológico estos elementos basofílicos en la luz glandular. Dos de estos toros tenían vesiculitis intersticial y un tercero lesión degenerativa severa; en este último caso la explicación podría estar dada por la organización del exudado, desconociéndose el origen y/o mecanismos por los cuales aparecen dichos cuerpos en las vesiculitis intersticiales.

La presencia de infiltrado linfoplasmocitario en el intersticio glandular de 11 toros de este relevamiento, probablemente se haya originado, al igual que en los testículos y epidídimos, en respuesta a estímulos antigénicos y se considera de baja significación patológica.

Un quiste intravesical fue hallado en un toro de este ensayo. Dicha alteración puede ser congénita o adquirida, como resultado de inflamación u obstrucción de los ductos excretorios (Weiss, 1964; Bagshaw y Ladds, 1974 b). Se ha informado que la hipoplasia de vesículas seminales es un defecto poco frecuente, oscilando el porcentaje entre 0,5 y 2% (Bagshaw y Ladds, 1974 b). Así, para este relevamiento sólo en un toro de los 2 que tenían hipoplasia, se confirmó el diagnóstico por estudio histológico. Dada la naturaleza hereditaria de tal alteración los toros afectados no deberían utilizarse con fines reproductivos.

Aquí también el bajo número de observaciones encontradas, probablemente ha motivado la falta de significación en el análisis estadístico, al evaluar las variables: edad y alteraciones encontradas.

5.3.2.7. Ampollas de los Conductos Deferentes

La incidencia de ampullitis varía de acuerdo al tipo de estudio que se realice, desde 0,1% a 58% (Ball y col., 1968; Bagshaw y Ladds, 1974 b). En este ensayo se revisó la totalidad de las ampollas y se tomaron muestras de

aquellas que presentaron signos tales como aumento de tamaño y/o turgidez debida al edema, lo que determinó un 2% de casos. Los agentes productores de ampullitis son los mismos que aquellos citados en las afecciones inflamatorias de otros órganos genitales, pero principalmente han sido considerados los siguientes: Brucella abortus, Streptococcus, Corynebacterium pyogenes, Mycobacterium tuberculosis y Pseudomona aeruginosa (Bagshaw y Ladds, 1974 b; Roberts, 1979).

Clínicamente la ampullitis no es fácilmente reconocida, sin embargo en toros con alta incidencia de vesiculitis seminal, una mayor incidencia de infección en ampollas, fue hallada por estudio post-mortem. (Ball y col., 1968).

En el 3% de los casos se observaron quistes en proximidad de las ampollas de los ductos; éstos probablemente constituyen remanentes del ducto paramesonéfrico. Se han citado porcentajes de frecuencia del orden del 24-44% para esta anomalía (Bagshaw y Ladds, 1974 b). Aunque se carece de información histológica sobre los toros afectados, la descripción macroscópica y la ubicación de estos quistes, coinciden con lo descrito en la bibliografía consultada (Bagshaw y Ladds, 1974 b; Roberts, 1979; Larson, 1980).

6. CONCLUSIONES

6.1. Estudios microbiológicos

6.1.1. Brucelosis

- 1) No es suficiente la búsqueda de brucelas en la esfera genital para poder establecer correlación con los resultados serológicos.
- 2) El cultivo positivo de una cepa 19 en un toro con epididimitis, evidencia el poder patógeno de esta cepa vacunal, sobre el aparato genital del macho bovino.
- 3) Con el empleo de un medio con antibióticos, se logró que el 86,7% de las muestras sembradas no excedieran de 1/3 el grado de contaminación, lo que hace recomendable su utilización, cuando se procesan muestras de órganos genitales de toros de frigorífico .

6.1.2. - 6.1.3. Bacterias aerobias y micoplasmosis

- 1) El único aislamiento de bacterias aerobias, correspondiente al género Corynebacterium, y los resultados negativos al cultivo de micoplasmas, coinciden con la presencia de procesos inflamatorios predominantemente crónicos, hecho que indica la dificultad de recuperar microorganismos en afecciones genitales con estas características.

6.2. Estudios serológicos

6.2.1. Brucelosis

- 1) El 86,6% de los animales con títulos aglutinantes y lesiones inflamatorias en sus órganos genitales fueron serológicamente positivos o sospechosos, lo cual podría indicar una probable etiología a Br. abortus de dichas anomalías.
- 2) En todos los toros con títulos aglutinantes de 1/25 a 1/100 incompleto se deberían realizar obligatoriamente las pruebas de 2-mercaptoetanol o rivanol, y en aquellos positivos, la prueba de fijación de complemento.
- 3) En todos los toros con títulos aglutinantes de 1/25 a 1/100 incompleto y negativos al 2-mercaptoetanol o rivanol, se deberían repetir los muestreos de sangre a los 30 y 60 días nuevamente.
- 4) La prueba de la tarjeta podría utilizarse como prueba tamiz.

6.2.2. Leptospirosis

1) El porcentaje de toros reactivos al serovar hardjo, solo o asociado al serovar wolffi fue del 32,3% y 46,5% respectivamente; este hallazgo evidencia la necesidad de incluirlo en la elaboración de inmunógenos. Sería necesario también estudiar la etiopatogenia del citado serovar en afecciones reproductivas del macho bovino.

6.3. Estudios morfológicos

6.3.1. Alteraciones patológicas

1) Debido a los hallazgos observados se puede inferir que las anomalías de los órganos genitales son de frecuencia relativamente alta en toros de matadero. Esto podría estar indicando que dichas anomalías constituirían causas importantes de descarte en toros, necesitándose actualización sobre estos estudios en nuestro medio, para un mejor conocimiento de la relación causa-efecto.

2) Cabe destacar que las lesiones en prepucio, pene, testículos y vesículas seminales, afectaron sobre todo a toros viejos, demostrando el efecto significativo de la edad en el desarrollo de las alteraciones.

3) Los porcentajes obtenidos sobre adherencias y calcificaciones testiculares, indican la necesidad de ampliar el conocimiento sobre las posibles etiologías de las citadas alteraciones, así como también determinar en qué grado las mismas, interfieren con la fertilidad del toro, mediante estudios en poblaciones de matadero que incluyan afecciones de órganos genitales y evaluación de semen.

4) Alteraciones tales como las calcificaciones testiculares sólo son detectadas al examen post-mortem, indicando que no siempre se puede establecer que un toro está libre de afecciones genitales por la revisión de rutina.

5) De acuerdo a los resultados obtenidos se ha comprobado que la sola presencia de asimetrías en vesículas seminales, no indica existencia de lesiones inflamatorias. Esto debe tenerse en cuenta en la práctica rural para no llegar a diagnósticos erróneos.

6) La respuesta de tipo intersticial observada en las vesículas seminales de toros con serología positiva a brucelosis, indicaría una probable localización de Br. abortus en otros órganos, o bien la resolución del proceso inflamatorio.

7 - Apéndice

1) Agar sangre

Se utilizó Agar Sangre (Oxoid) con el agregado de sangre bovina desfi-
brinada al 7%. Se ajustó el pH a 7,4.

Se esterilizó a 1 atmósfera durante 15 minutos, efectuándose antes de su uso
un control de esterilidad durante 24 hs. a 37°C.

2) Agar triptosa-suero con antibióticos

Se utilizó Agar triptosa (DIFCO), más el agregado de suero equino estéril
e inactivado (a 56°C durante 30 minutos) en una proporción del 10%.

A dicho medio se incorporaron los siguientes antibióticos (Sigma) cada 10 ml de
medio:

Polimixina B, Sulfato 600 U.I.

Bacitracina2500 U.I.

Cicloheximida 10 mg

Se ajustó el pH a 7,2.

Se esterilizó a 1 atmósfera durante 15 minutos.

3) Agar triptosa-suero sin antibióticos

Idem al anterior, pero sin el agregado de antibióticos.

4) Solución indicadora para el control de CO₂

Bicarbonato de sodio 0,1 g

Azul de Bromotimol al 0,5% 2 ml

Agua destilada 100 ml

5) Coloración de Ziehl-Neelsen (modificada para Brucella).

1) Se fijó el extendido al calor.

2) Se agregó carbol fucsina (diluído 1/10 con agua destilada) dejándo-
lo actuar por espacio de 10 minutos.

3) Se lavó con agua, decolorando luego con ácido acético.

4) Después de lavar nuevamente con agua, se agregó azul de metileno.
(diluído 1/2 con agua destilada) durante 30 segundos.

5) Se secó el frotis al calor, observándolo luego bajo microscopio óp-
tico.

6) Aglutinación con acriflavina

Se trabajó con una solución de acriflavina neutral diluída 1:1000 con
agua destilada.

7) Agar Brucella-suero

Se empleó Agar Brucella (Merck) más 10% de suero equino estéril e inac-
tivado (a 56°C durante 30 minutos).

Se ajustó el pH a 7,4.

Se esterilizó a 1 atmósfera durante 15 minutos.

8) Agua peptonada

Peptona (Difco)..... 10 g
Cloruro de sodio..... 5 g
Agua destilada..... 1000 ml

Se ajustó el pH a 7,2 y se esterilizó a 1 atmósfera durante 30 minutos.

9) Agar Mc Conkey

Se utilizó agar Mc Conkey (OXOID), ajustándose el pH a 7,1.

Se esterilizó a 1 atmósfera durante 15 minutos.

10) Caldo Tetracionato

Se utilizó caldo tetracionato (DIFCO), esterilizándose hasta ebullición.

11) Agar Salmonella-Shigella

Se utilizó agar Salmonella-Shigella (OXOID). Se ajustó el pH a 7,2. Se esterilizó a 1 atmósfera durante 15 minutos.

12) Medio N líquido

Caldo cerebro-corazón (DIFCO) 3,7 g
Extracto de levadura (DIFCO) 0,5 g
Agua destilada 100 ml

Se esterilizó en autoclave a 1 atmósfera durante 15 minutos.

A este caldo se le agregaron los siguientes componentes:

Suero equino (no inactivado) 20 ml
Extracto de levadura (al 25%) 10 ml
Acetato de Talio (al 1%) 1 ml
Penicilina (200.000 U.I./ml) 0,25 ml
AD (al 0,2% - SIGMA) 1,2 ml
Glucosa (al 50%) 2 ml

Se ajustó el pH a 7,8.

13) Medio B líquido (medio de Hayflick modificado)

Infusión corazón (reemplazado por caldo
cerebro-corazón DIFCO) 90 ml

Este caldo se esterilizó en autoclave a 1 atmósfera durante 15 minutos

Al mismo se le agregaron los siguientes componentes:

Suero equino (no inactivado) 20 ml
Extracto de levadura (al 25%) 10 ml
Acetato de Talio (al 1%) 1 ml
Penicilina (200.000 U.I./ml) 0,25 ml

ADN (al 0,2% - SIGMA).....1,2 ml

Se ajustó el pH a 7,6.

14) Medio N sólido

Al medio N líquido se le adicionó Bacto-Agar al 2%.

15) Medio E sólido

Al medio E líquido se le adicionó Bacto-Agar al 2%.

16) Coloración de Dienes

Azul de metileno 2,4 g
Maltosa 10 g
Azur II 1,25 g
Cloruro de Sodio 0,25 g
Agua destilada100 ml

17) Solución de Hanks (BSS)

Solución Stock A

1- Cloruro de Sodio 160 g
Cloruro de Potasio 8 g
Sulfato de Magnesio 2 g
Cloruro de Magnesio 2 g
Agua destilada 800 ml

2- Cloruro de Calcio 2,8 g
Agua destilada 100 ml

Se mezclaron las dos soluciones lentamente llevándose a 1000 ml con agua destilada. Se adicionaron 2 ml de cloroformo; esta mezcla se conservó a 4°C.

Solución Stock B

Fosfato ácido de Sodio 3,04 g
Fosfato dipotásico 1,2 g
Glucosa 20 g
Agua destilada 800 ml

Una vez disueltas las drogas se incorporó 100 ml de rojo fenol al 0,4%.

El rojo fenol fue disuelto en Hidróxido de Sodio 10 normal. Luego se llevó a 1000 ml. con agua destilada. A esta solución se le adicionó 2 ml de cloroformo, conservándose en refrigeración a 4°C.

En el momento de usar, las soluciones A y B se distribuyeron de la siguiente

forma: Solución Stock A..... 100 ml
Solución Stock B..... 100 ml
Agua destilada 800 ml

Se esterilizó en autoclave a 1 atmósfera durante 15 minutos.

18) Medio de Korthof

Peptona proteosa.....	0,800 g
Cloruro de sodio.....	1,400 g
Bicarbonato de sodio.....	0,020 g
Cloruro de potasio.....	0,040 g
Fosfato monopotásico.....	0,180 g
Fosfato disódico.....	0,960 g
Acido nicotínico.....	0,001 g
Agua bidestilada.....	1,000 ml

Se ajustó el pH a 7,2.

El medio se sometió a ebullición durante 30 minutos. El volumen original se reconstituyó con agua bidestilada. Se dejó reposar toda una noche. Luego se filtró, y se lo esterilizó en autoclave a 1 atmósfera durante 20 minutos. Cuando la temperatura del medio estaba por debajo de los 40°C se agregó suero equino al 7-10% y vitamina B.

8 - FOTOGRAFIAS



FOTO Nº1 - Colonias de Mycoplasma bovis, bajo observación con lupa estereoscópica (x 25).

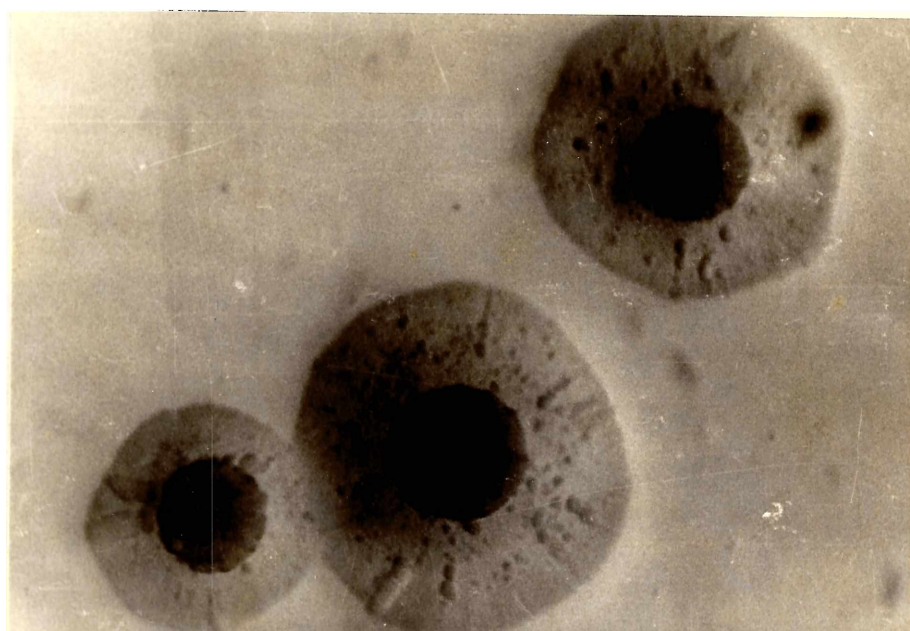


FOTO Nº2 - Colonias de Mycoplasma bovis, teñidas con Dienes (x 40).



FOTO N°3 - Prolapso prepucial. Se observan úlceras con exudado y obliteración del orificio prepucial.

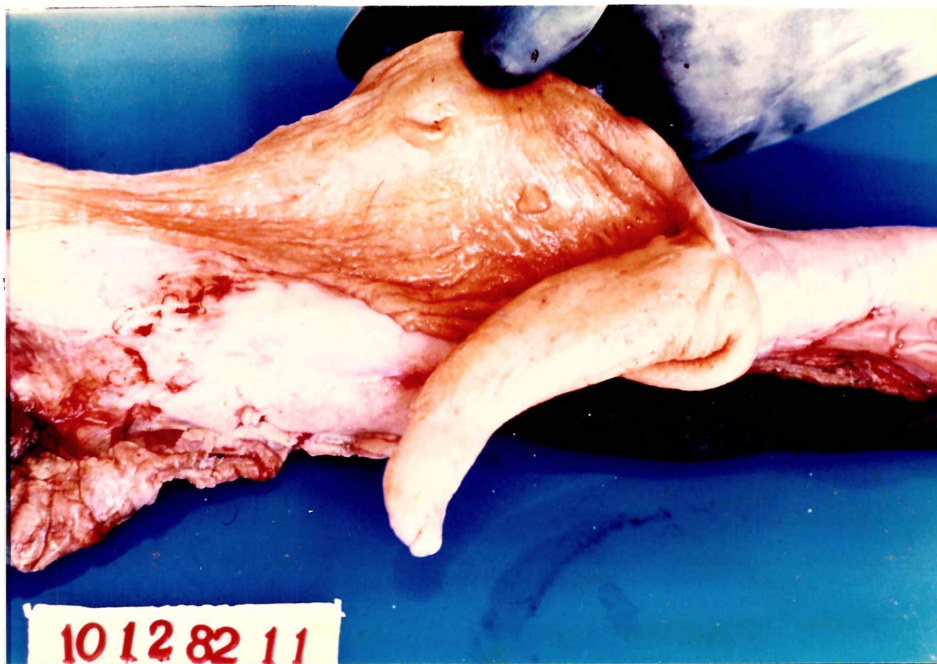


FOTO N°4 - Se observan 2 nódulos de apariencia papilomatosa localizados cerca del fórnix.

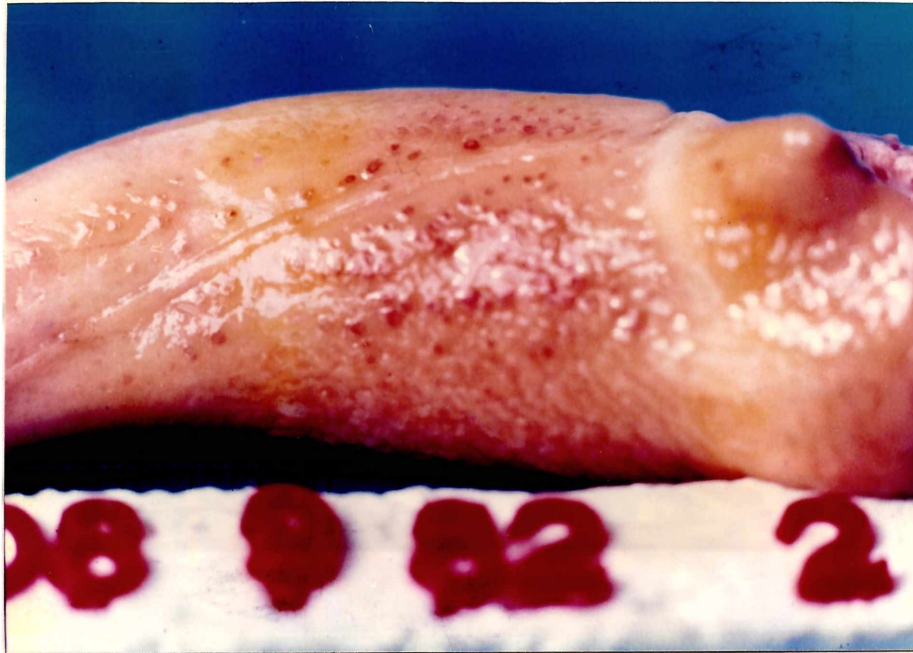


FOTO N°5 - Balanitis. Nótese la presencia de vesículas de 1 a 2 mm de diámetro con congestión periférica, localizadas en la cara ventral del glande, por encima y por debajo del rafe.



FOTO N°6 - Remanente de frenillo prepucial. Una pequeña banda de tejido conectivo pende del extremo del glande.



FOTO N°7 - Se observa un remanente de frenillo prepucial, con morfología de espátula, adherido al rafe del glande por uno de sus extremos.

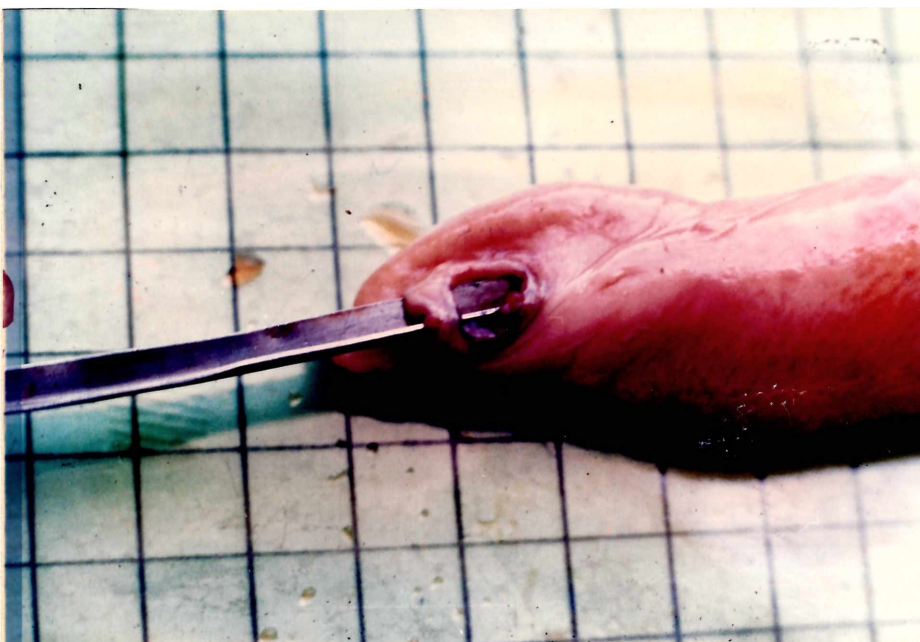


FOTO N°8 - Fístula uretral.



FOTO Nº9 - Adherencias de la túnica vaginal.
nal.

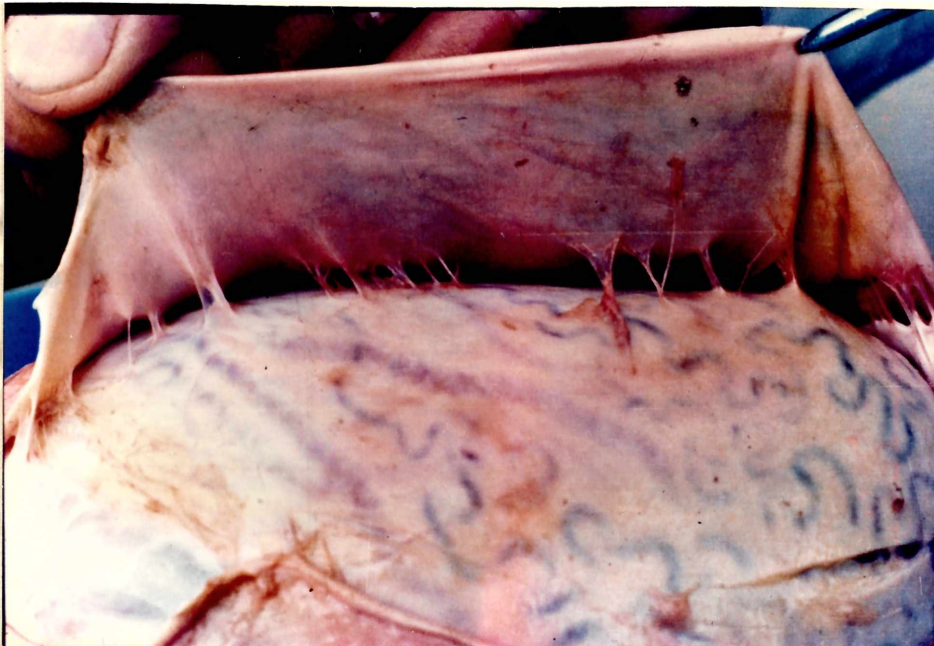


FOTO Nº10 - Adherencias de la túnica vaginal. Se observan
finas bandas de tejido conectivo entre las ca
pas parietal y visceral.

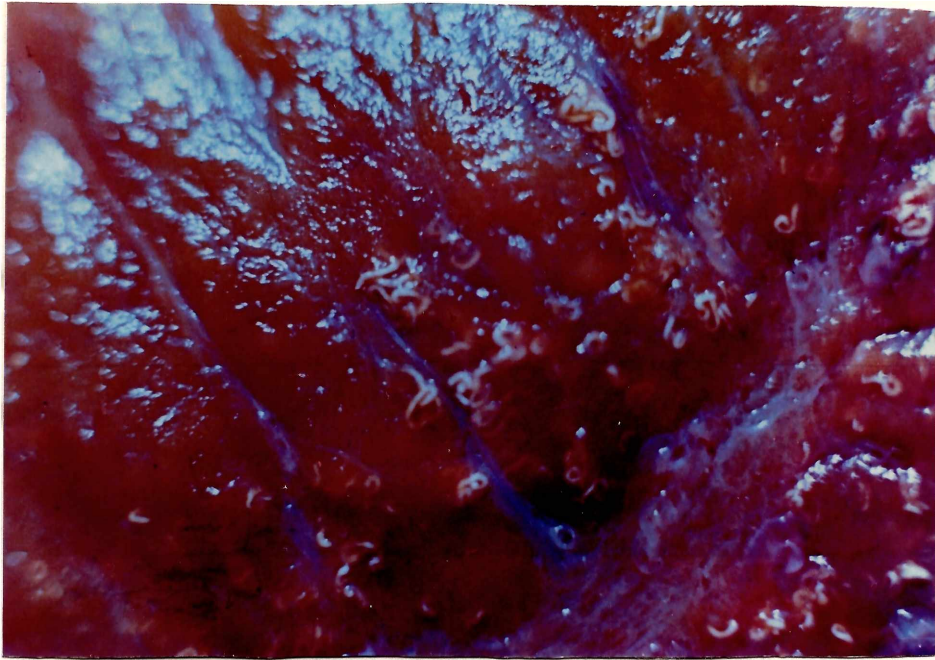


FOTO N°11 - Mineralización testicular. Depósitos de material calcificado que adoptan la disposición de los túbulos seminíferos, se observan entre los septos del parénquima testicular.

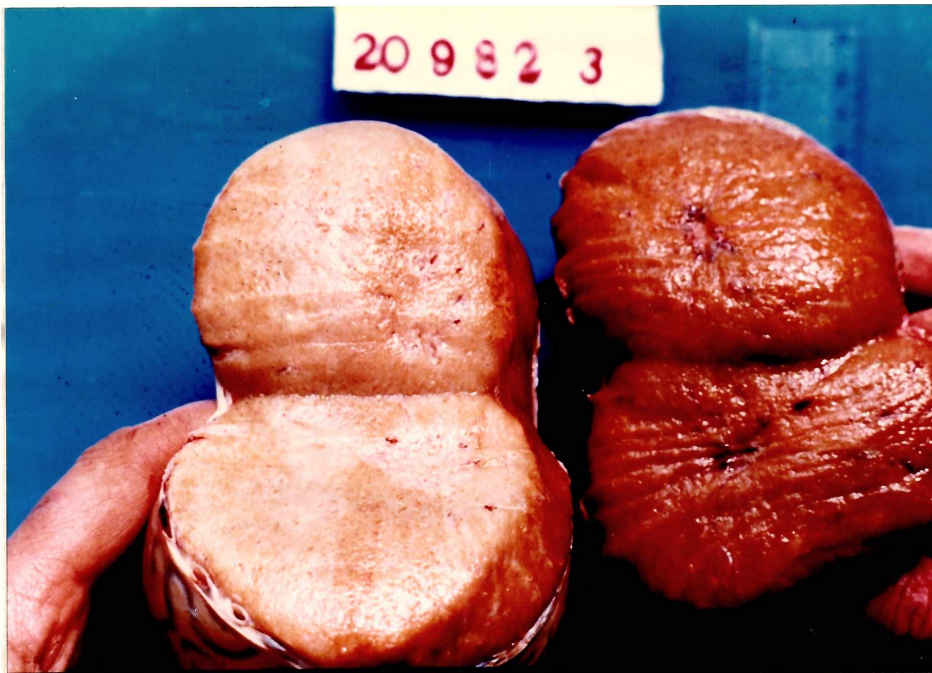


FOTO N°12 - Tumor de células de Sertoli. Corte transversal del testículo afectado (lado izquierdo) en el que se observa falta de convexidad y una coloración más blanquecina con respecto al homólogo (lado derecho).



FOTO Nº13 - Epididimitis. La cola epididimaria (ce) está notablemente aumentada de tamaño (3 veces su tamaño normal). Brucella abortus fue aislada de la lesión.



FOTO Nº14 - Epididimitis. Al corte la cola del epidídimo presenta cavidades quísticas, con exudado purulento y centros caseosos.

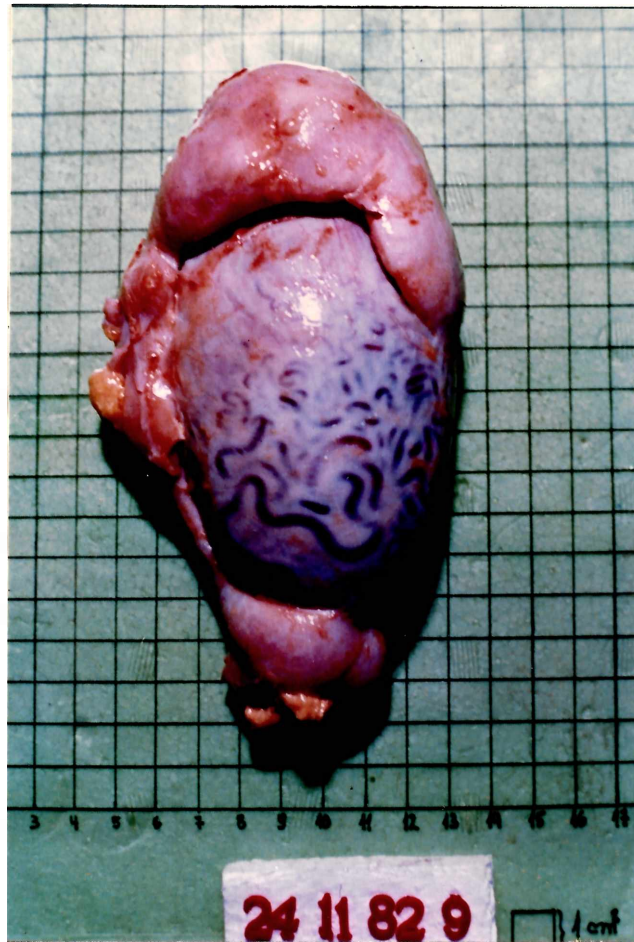


FOTO Nº15 - Epididimitis. Lesión generalizada, afectando a la cabeza, cuerpo y cola del epidídimo. Un material purulento exuda del cuerpo y la cola.

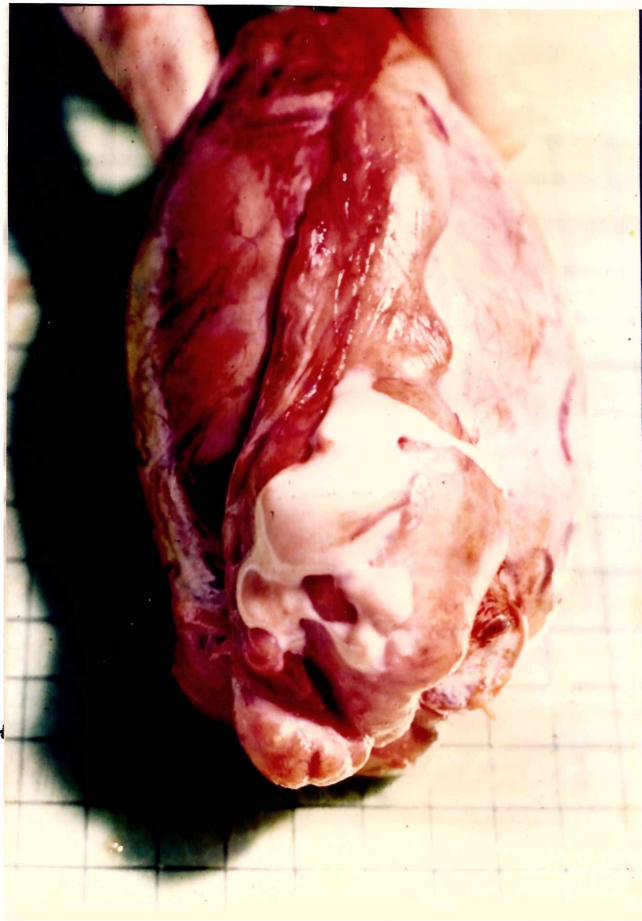


FOTO Nº16 - Epididimitis. Al corte de la cola epididimaria, se observa exudado purulento, que resultó negativo al aislamiento de bacterias patógenas.

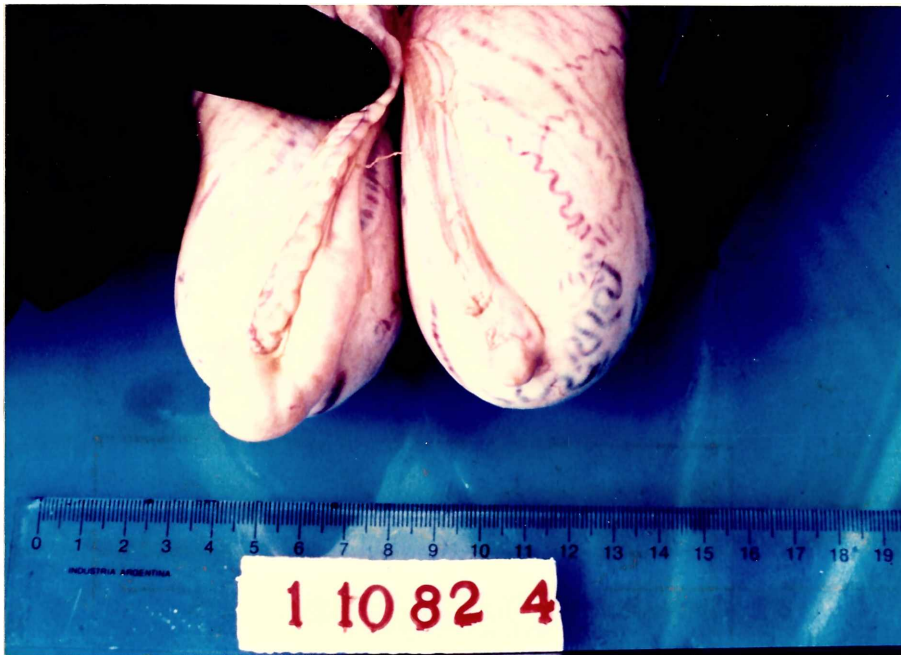


FOTO Nº17 - Hipoplasia de cola epididimaria. Se observa una marcada disminución del tamaño de la cola del epidídimo (lado de recho), 2 veces inferior al normal (lado izquierdo).

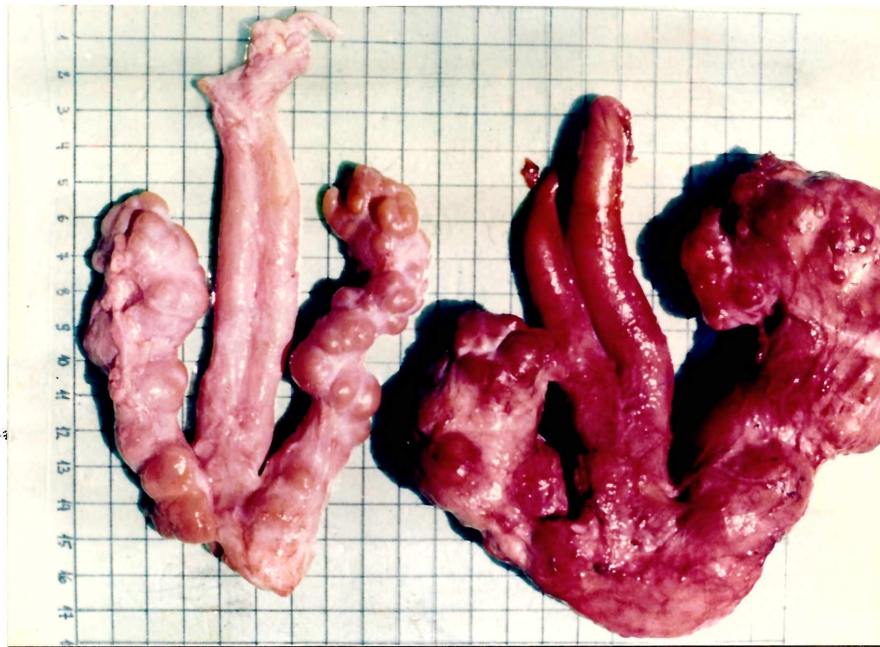


FOTO Nº18 - Vesiculitis. Hay aumento de tamaño y falta de lobulación en las glándulas afectadas (lado derecho) comparadas con las normales (lado izquierdo) Br. abortus se aisló de la lesión. También se observa ampullitis.



FOTO N°19 - Vesiculitis. La vesícula afectada (abajo) tiene notable aumento de tamaño (2 veces el tamaño normal) y pérdida de la lobulación, mientras que la homóloga (arriba) no presenta cambios macroscópicos.

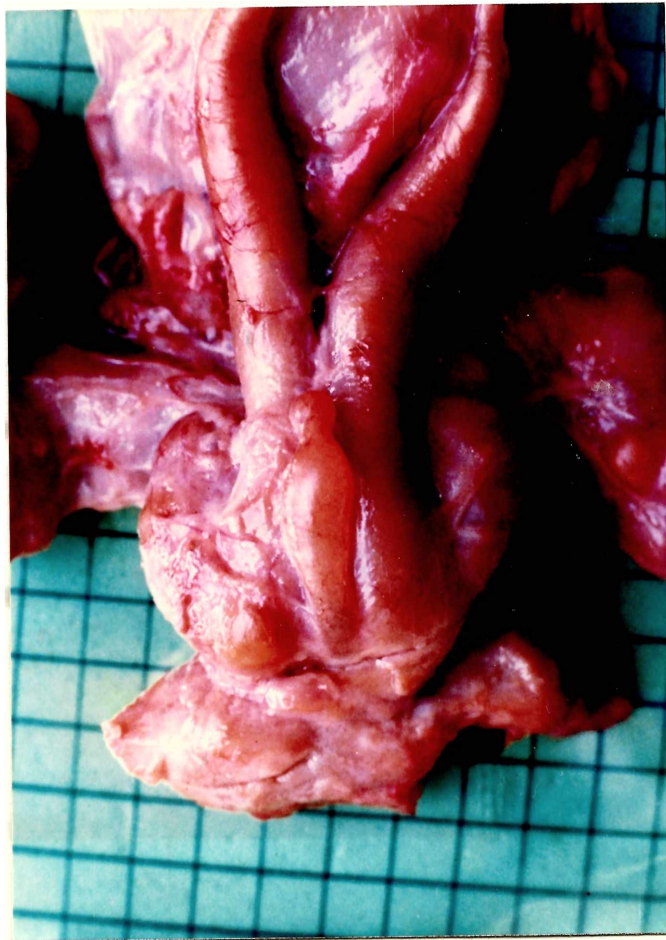


FOTO N°20 - Remanentes de los conductos paramesonéfricos (útero masculino). Se observa una formación quística localizada por delante del área de divergencia de las ampollas de los conductos deferentes.

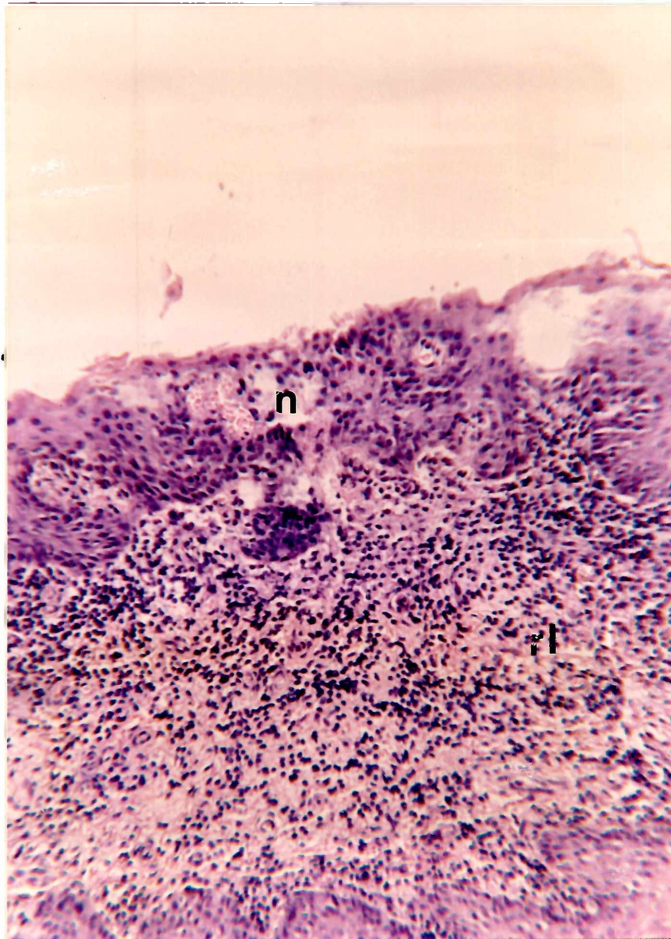


FOTO Nº21 - Balanitis. Se observa una reacción no supurativa, con respuesta linfoidea moderada (rl) y necrosis superficial del epitelio (n). (x100). Hematoxilina-eosina.

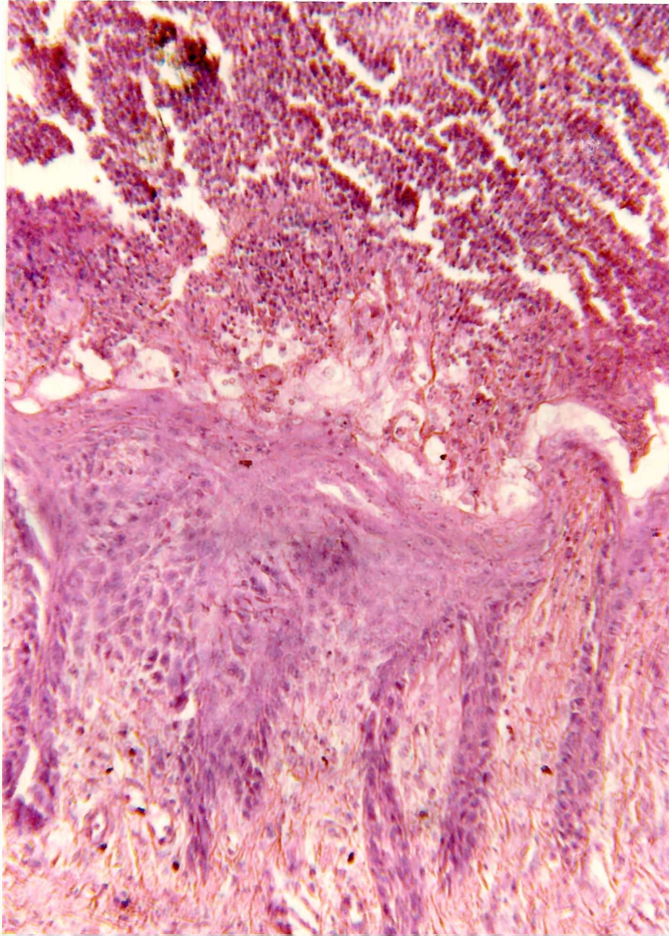


FOTO N°22 – Prolapso prepucial. Sobre la mucosa peneana, se observa presencia de abundantes neutrófilos.

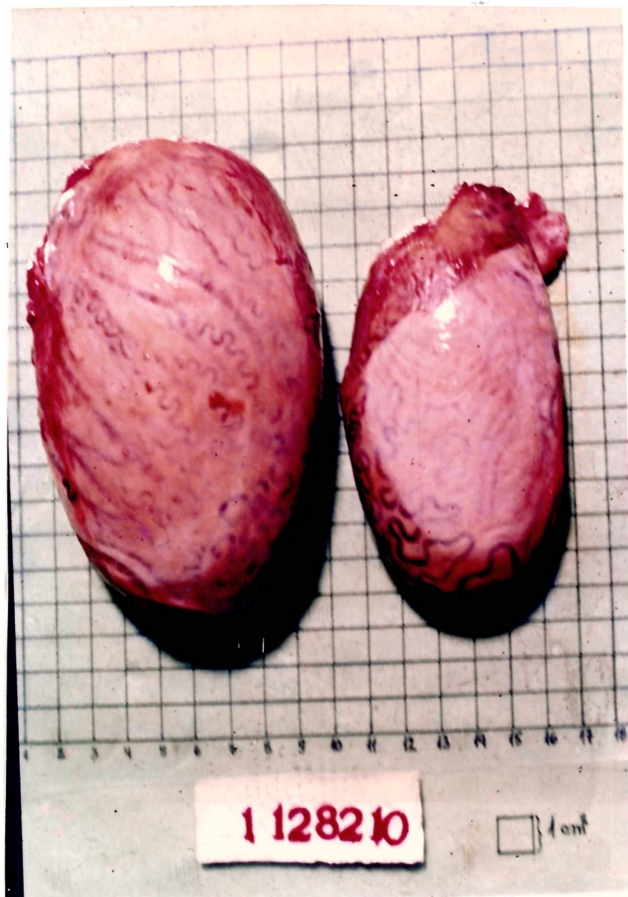


FOTO Nº23 - Degeneración testicular. El testículo afectado (lado derecho) tiene una disminución considerable de su tamaño, en comparación con un testículo normal (lado izquierdo). El peso del testículo con degeneración era de 205 g y el del normal de 407 g. El cuadro histológico corresponde a la foto Nº26.

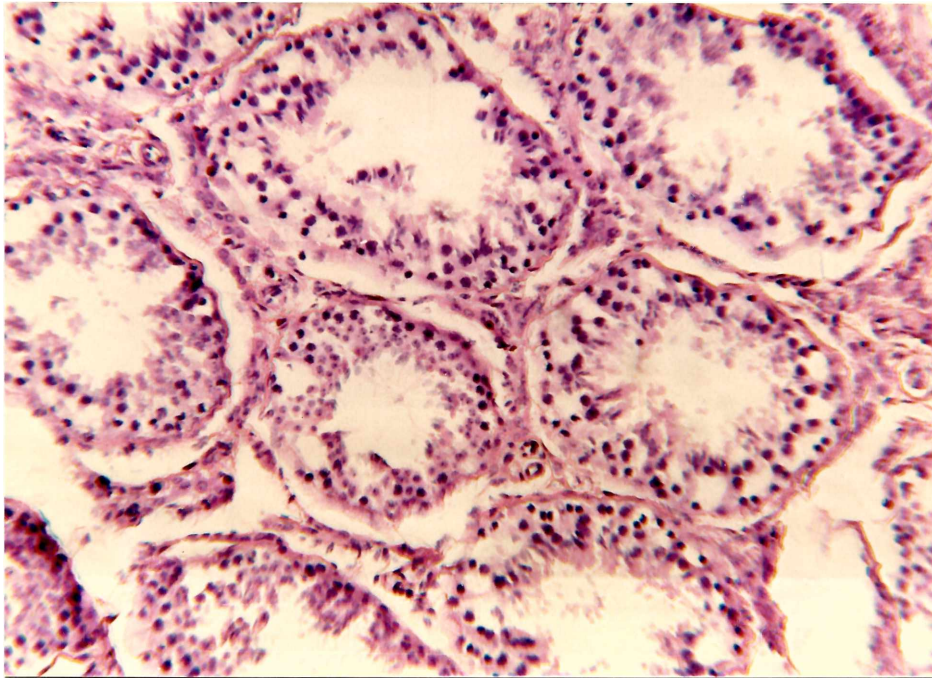


FOTO N°24 - Degeneración testicular. Los túbulos seminíferos presentan células germinales con diferentes grados de degeneración y necrosis. Los espermatozoides están ausentes o en muy escaso número. (x100). Hematoxilina-eosina.

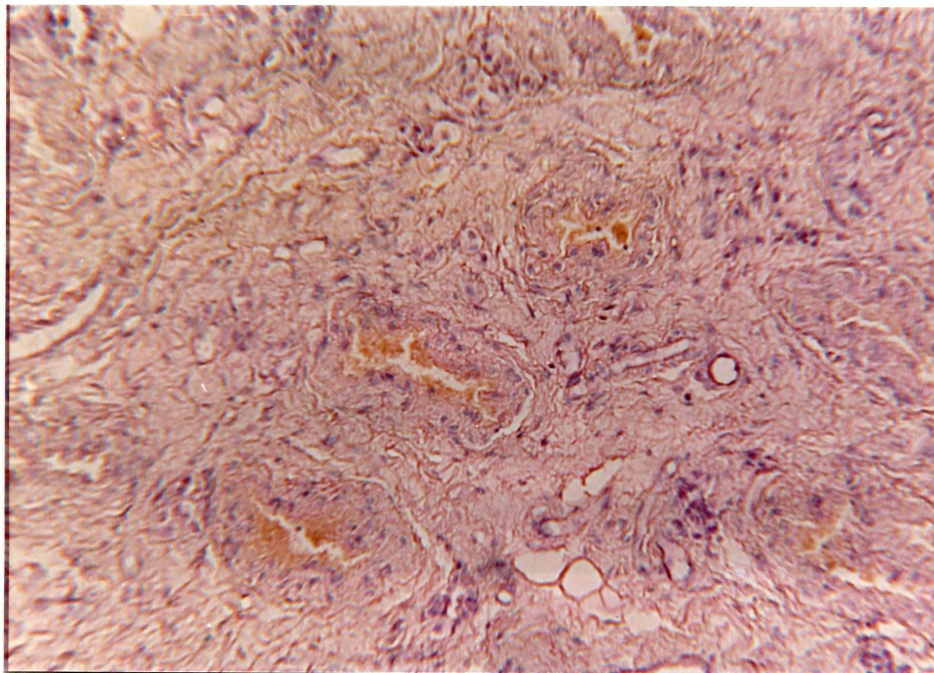


FOTO N°25 - Degeneración testicular con atrofia. Se observa pérdida de la relación parénquima-tejido intersticial, con notable predomio de este último. En el interior de algunos túbulos se evidencia la presencia de lipofuscina (x100). Hematoxilina-eosina.

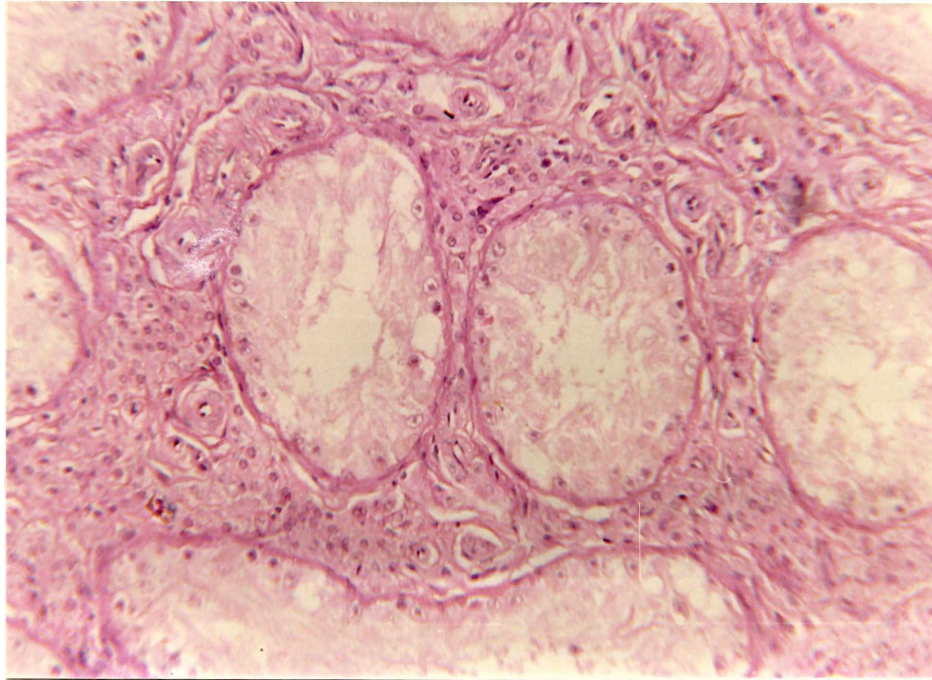


FOTO N°26 - Degeneración testicular con notable aumento del tejido co
nectivo intersticial. Los túbulos presentan como único com
ponente células de Sertoli; las membranas basales están sig
nificativamente engrosadas. (x100). Hematoxilina-eosina.

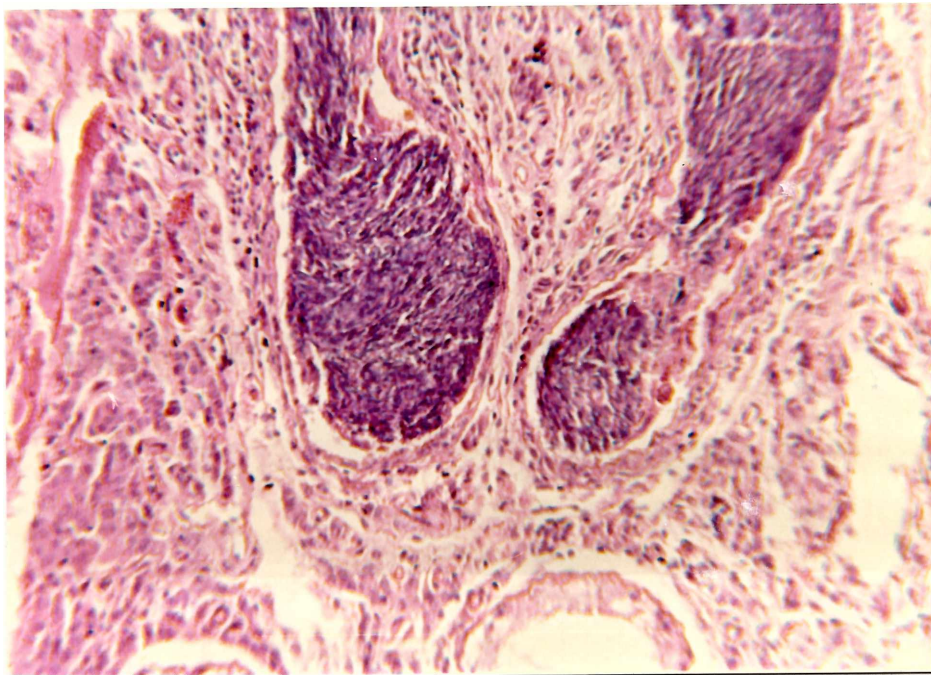


FOTO N°27 - Espermiostasis. Los túbulos seminíferos están ocluidos por
masas aglutinadas de espermatozoides. Se observa aumento
del grosor de la membrana basal, incremento del tejido con
juntivo e infiltración mononuclear. (x100). Hematoxilina-
eosina.

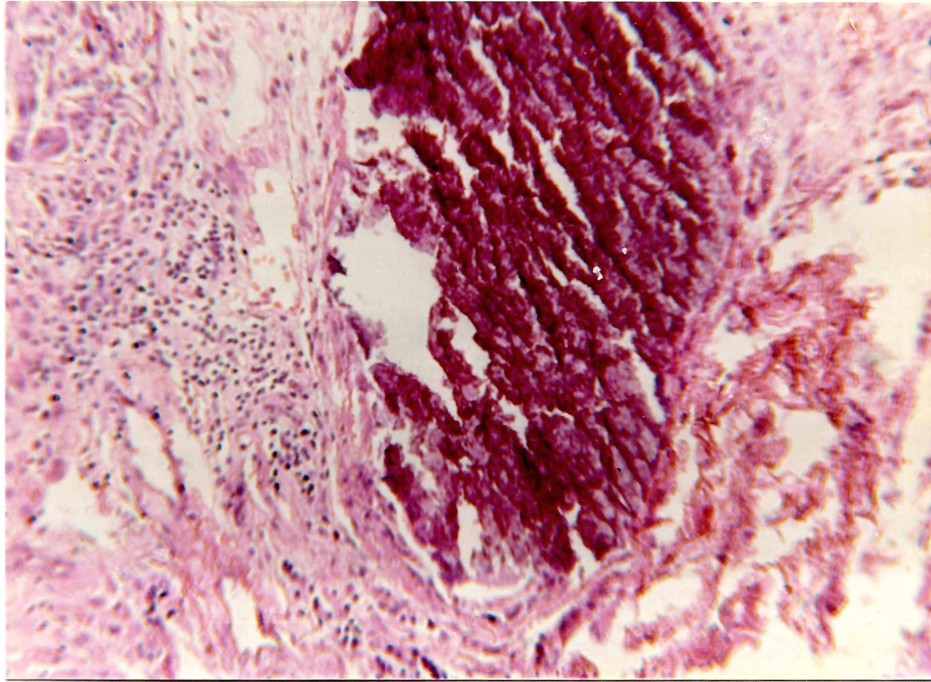


FOTO N°28 - Mineralización testicular. Se observa un túbulo seminífero calcificado, con aumento del tejido intersticial e infiltración mononuclear (izquierda) (x200). Hematoxilina-eosina.

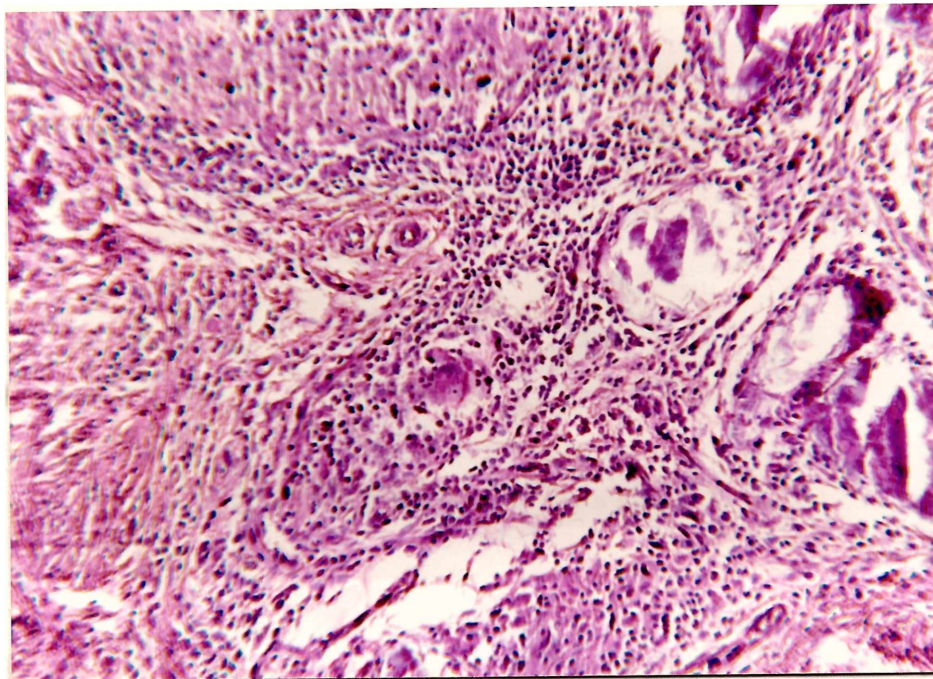


FOTO N°29 - Orquitis granulomatosa. El tejido testicular ha perdido su arquitectura normal. Se observan centros necróticos, rodeados por células inflamatorias y fibrosis periférica. (x100). Hematoxilina-eosina.

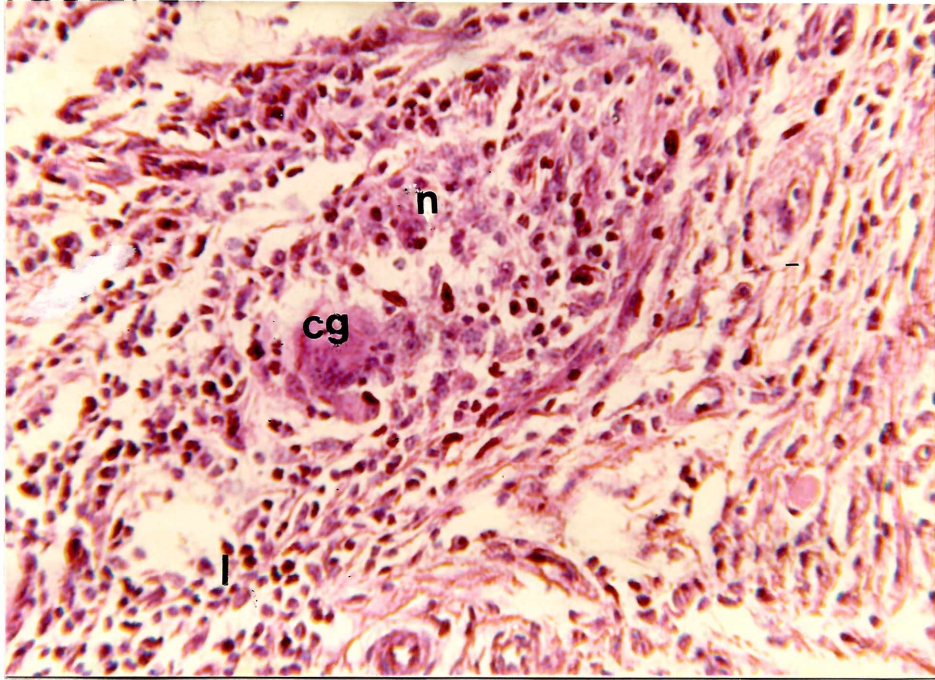


FOTO Nº30 - Orquitis granulomatosa. En un sector ampliado de la foto anterior se observa un granuloma con necrosis leve (n) una célula gigante (cg) y numerosos linfocitos (l) (x 200). Hematoxilina-eosina.

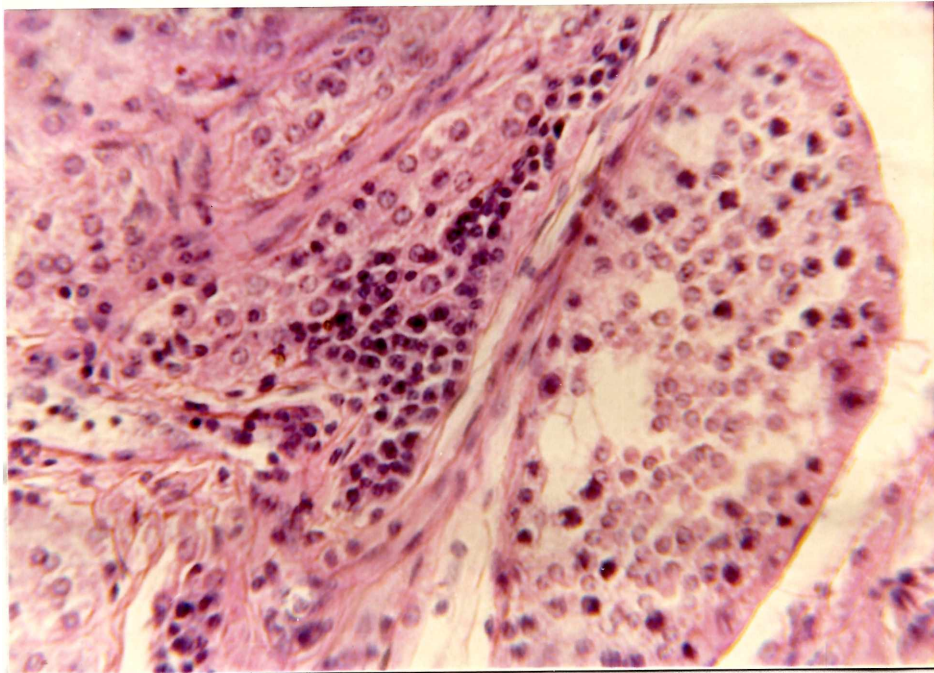


FOTO Nº31 - Orquitis intersticial. En adyacencia a un tubo seminífero la infiltración celular compuesta por linfocitos y células plasmáticas, ocupa un sector en forma de cuña del intersticio tubular (x200). Hematoxilina-eosina.

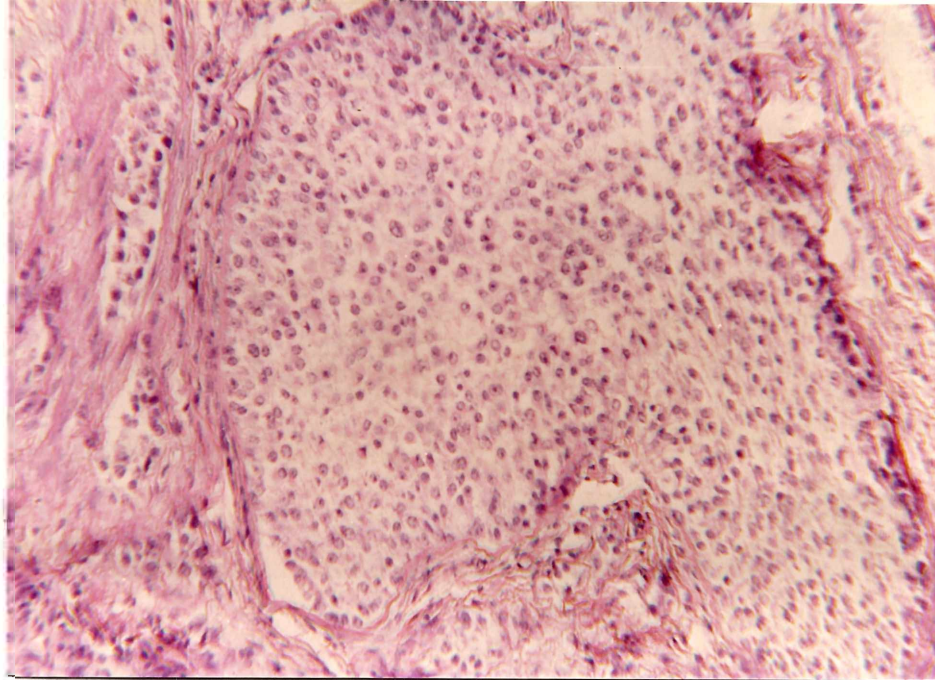


FOTO N°32 - Tumor de células de Sertoli. Se observa pérdida de la arquitectura testicular. Las células neoplásicas invaden el túbulo seminífero, ocupando íntegramente la luz. (x100). Hematoxilina-eosina.

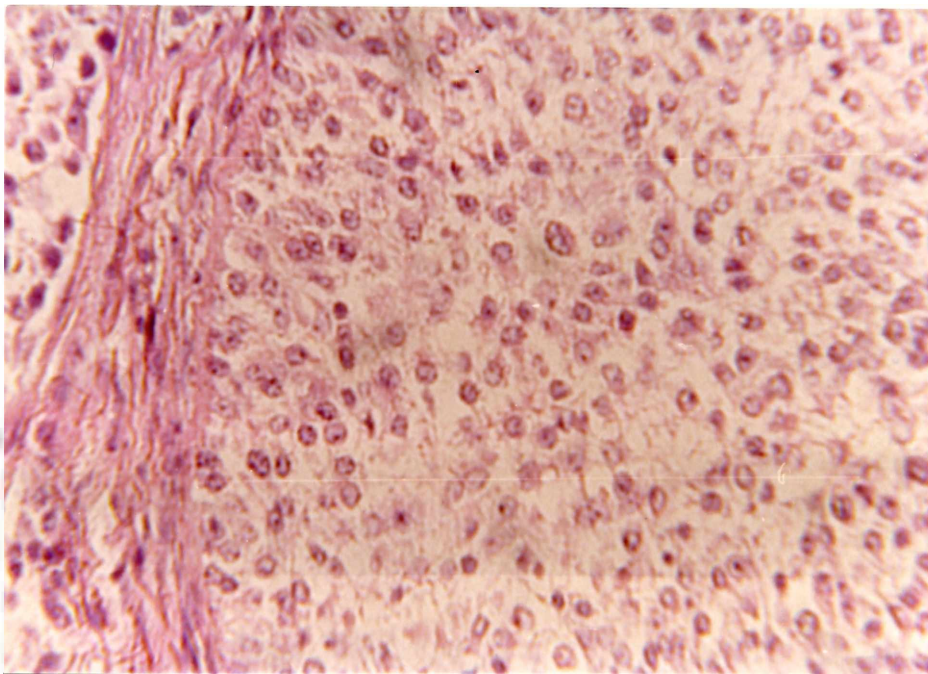


FOTO N°33 - Tumor de células de Sertoli. Células grandes, de contornos citoplásmicos mal definidos, con núcleos redondeados de cromatina marginada y nucleolos visibles. (x200). Hematoxilina-eosina.

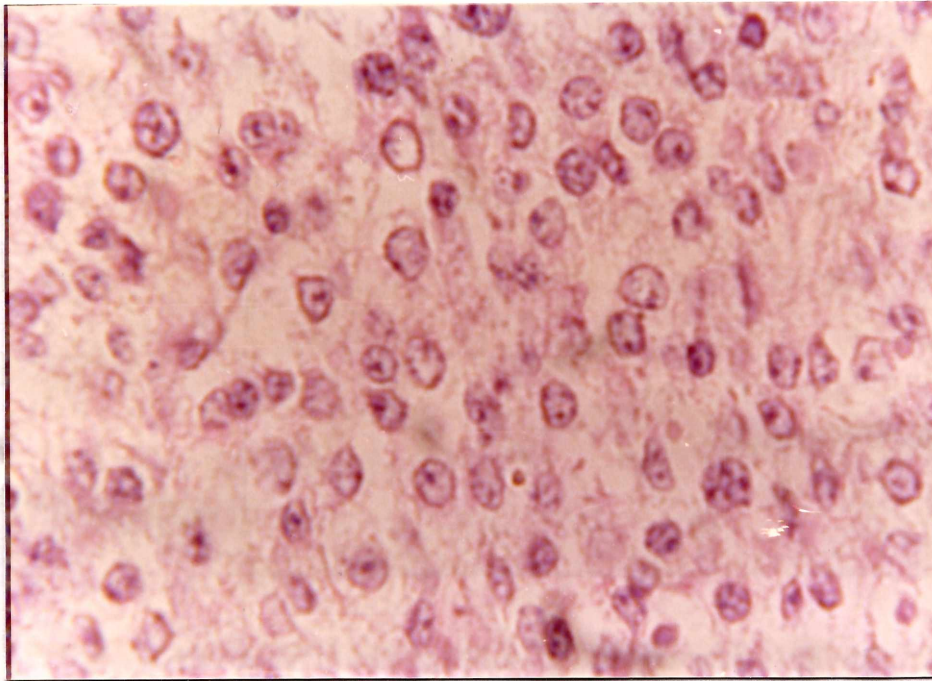


FOTO Nº34 - Tumor de células de Sertoli. La caracterización de las células neoplásicas puede observarse en detalle (x400). Hematoxilina-eosina.

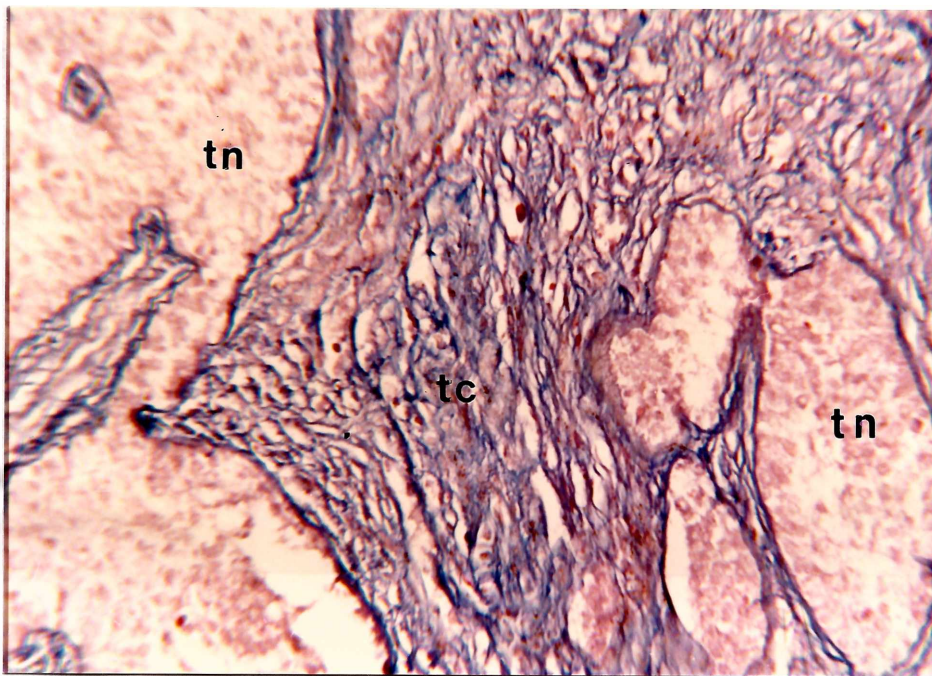


FOTO Nº35 - Tumor de células de Sertoli. Sector de túbulos neoplásicos (tn) rodeados de abundante cantidad de tejido conectivo (tc) (x 100) Mallory.



FOTO N°36 - Tumor de células de Sertoli. Dentro de un túbulo neoplásico, se observa un "islote" (i) de células de aspecto no tumoral, rodeadas de material eosinofílico con aspecto de membrana basal (mb). (x100). Hematoxilina-eosina.

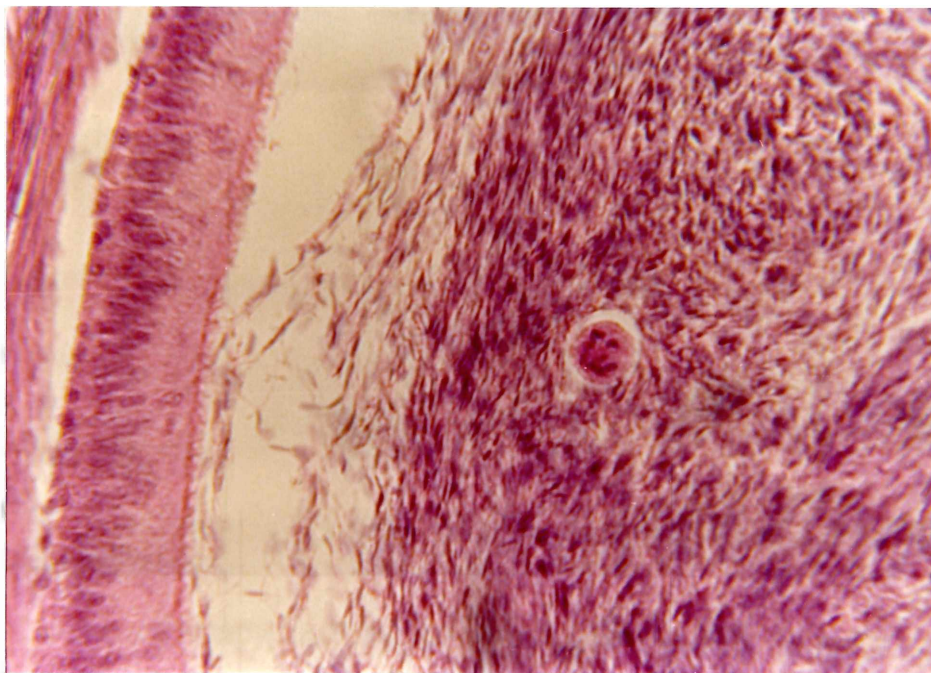


FOTO N°37 - Epidídimo. Célula de localización intratubular, con apariencia de célula gigante, rodeada por espermatozoides. (x200). Hematoxilina-eosina.

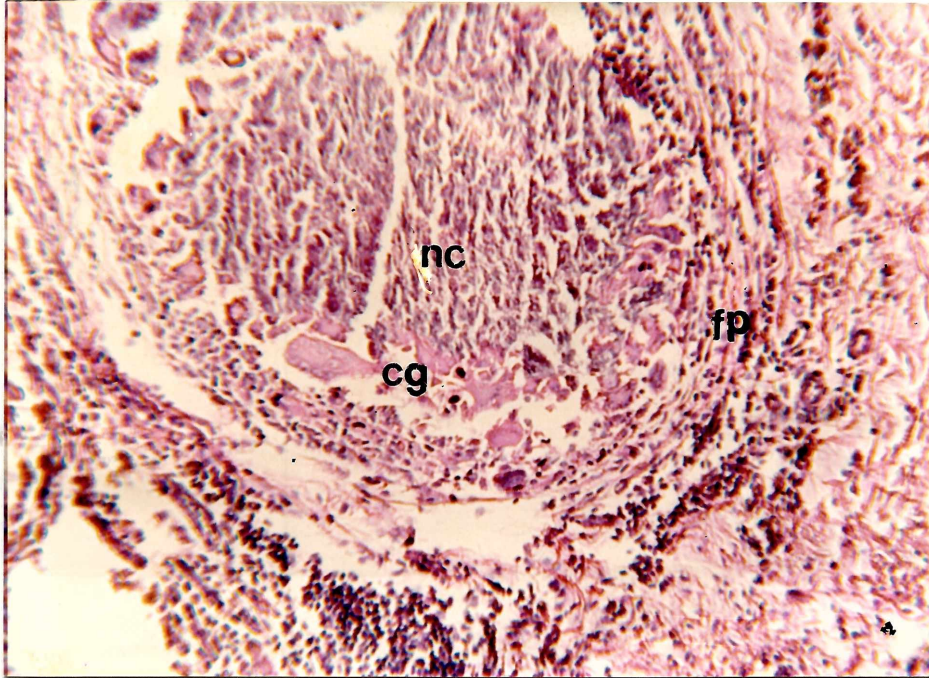


FOTO N°38 - Epididimitis. Reacción granulomatosa producida por Br. abortus. Nótese la necrosis central (nc), una zona externa compuesta por infiltración mononuclear y células gigantes (cg) y fibrosis periférica (fp). (x100). Hematoxilina-eosina.

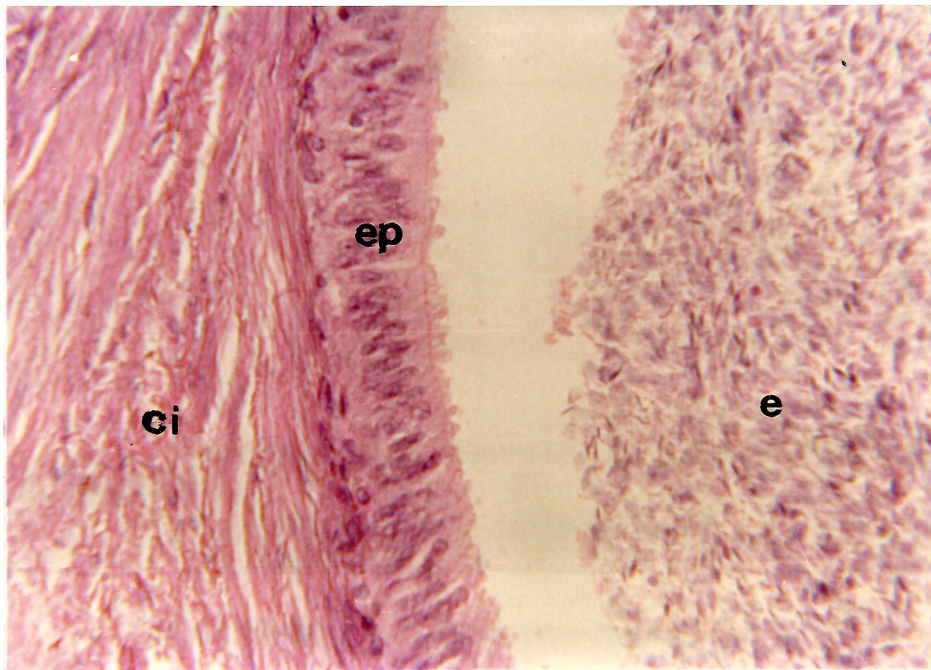


FOTO N°39 - Epidídimo normal (cola). De izquierda a derecha se observa: el tejido conectivo intertubular (ci), el epitelio tubular (ep) con sus cilias y la luz del túbulo conteniendo espermatozoides (e). (x200). Hematoxilina-eosina.

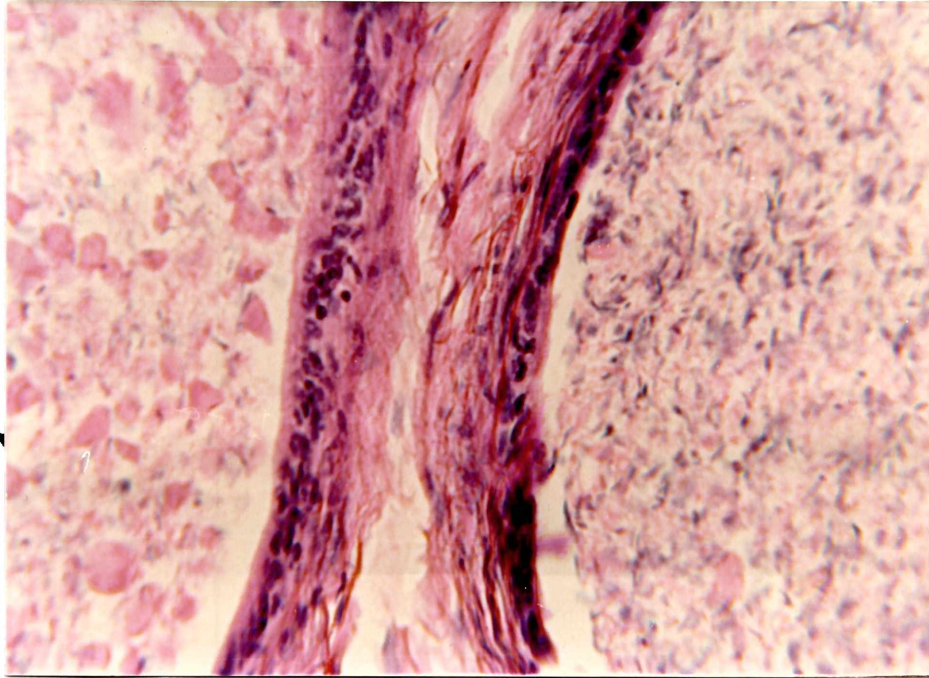


FOTO N°40 - Hipoplasia de cola epididimaria. Nótese la diferencia de altura de las células epiteliales afectadas y la falta de cilias en comparación con un epitelio normal. (x200). Hematoxilina-eosina.

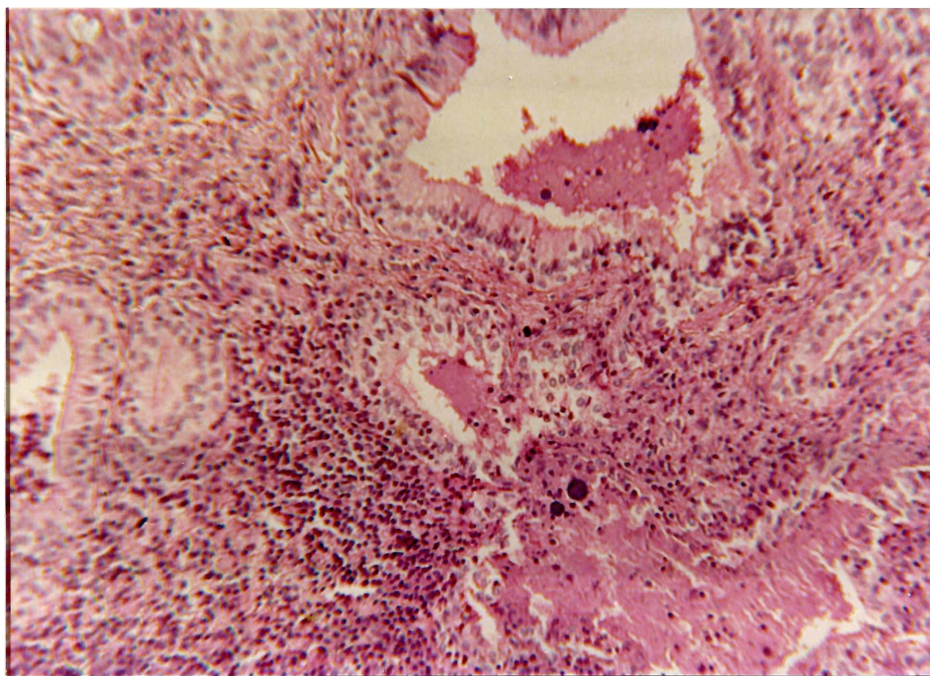


FOTO N°41 - Vesiculitis intersticial. Se observa una notable infiltración mononuclear del intersticio y fibrosis. El epitelio muestra cambios degenerativos leves e hiperplasia en algunos sectores. En la luz alveolar hay material de secreción eosinófilo (e) y concreciones basofílicas (b) (x100). Hematoxilina-eosina.

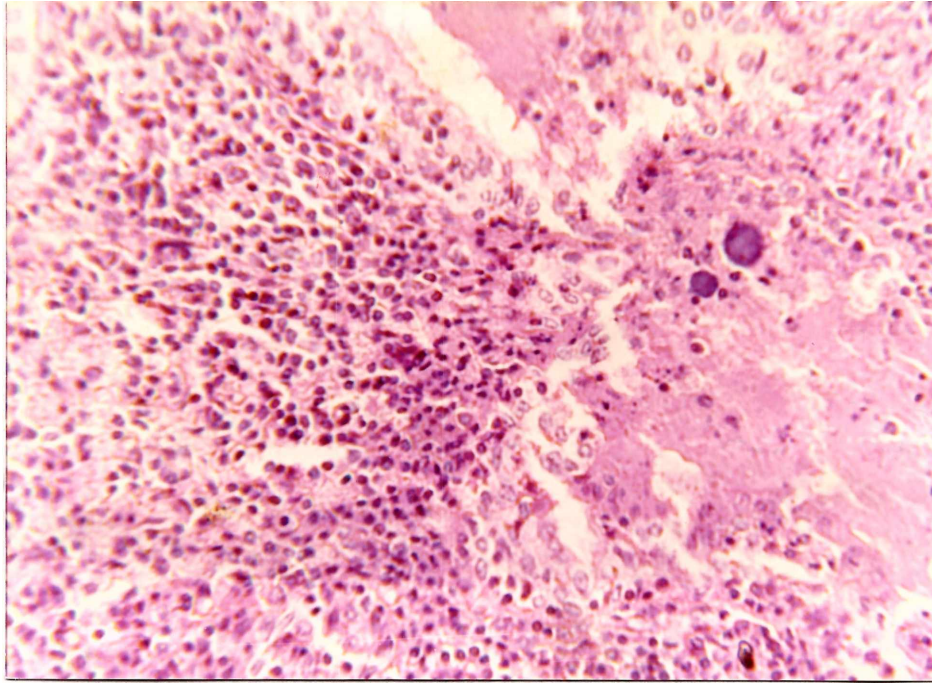


FOTO N°42 - Vesiculitis. En un sector ampliado de la foto anterior pueden observarse linfocitos y plasmocitos (centro izquierda) en el intersticio glandular y degeneración, necrosis e hiperplasia del epitelio (sector derecho, arriba y abajo). De esta lesión se aisló Corynebacterium bovis. (x200). Hematoxilina-eosina.

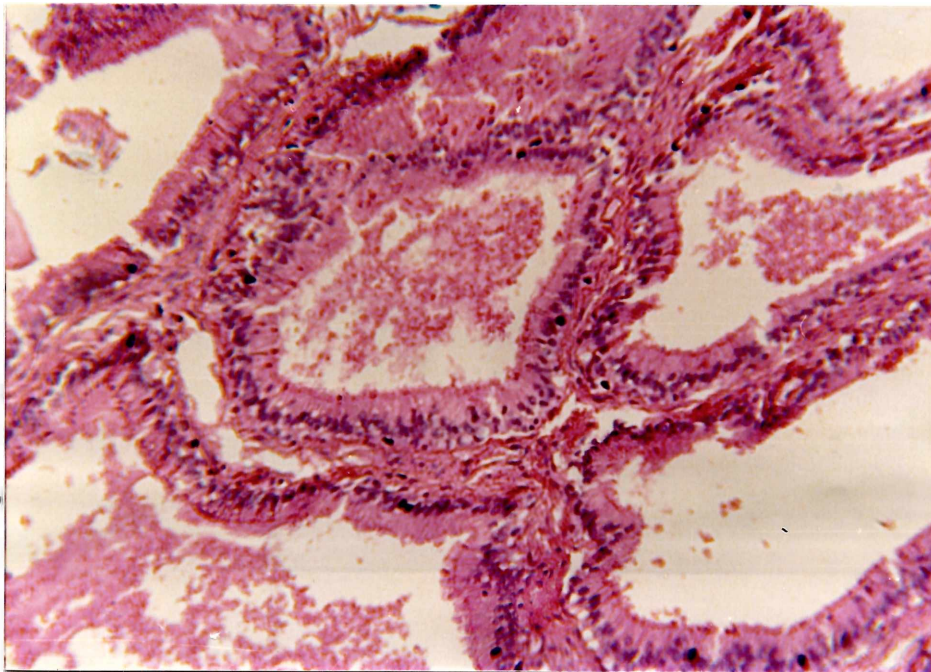


FOTO N°43 - Vesícula seminal normal. (x100). Hematoxilina-eosina.

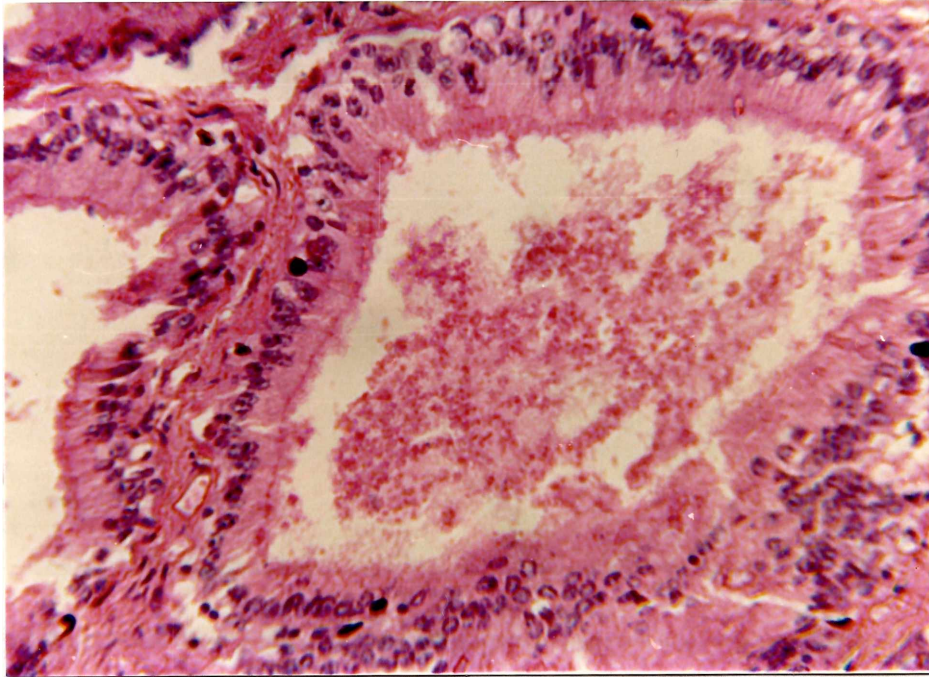


FOTO N°44 - Vesícula seminal normal.(x200). Hematoxilina-eosina.

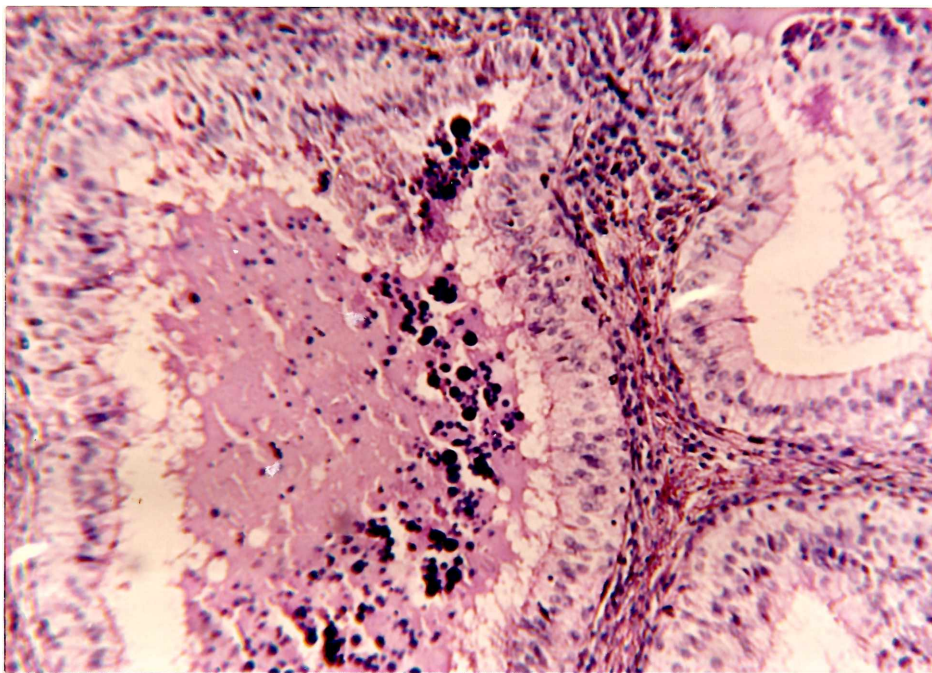


FOTO N°45 - Vesiculitis degenerativa. El epitelio presenta cambios notables caracterizados por degeneración e hiperplasia. Hay leve infiltración mononuclear del intersticio. Cabe destacar la presencia de corpúsculos basofílicos en abundante cantidad, localizados en el lumen glandular.(x100). Hematoxilina-eosina.

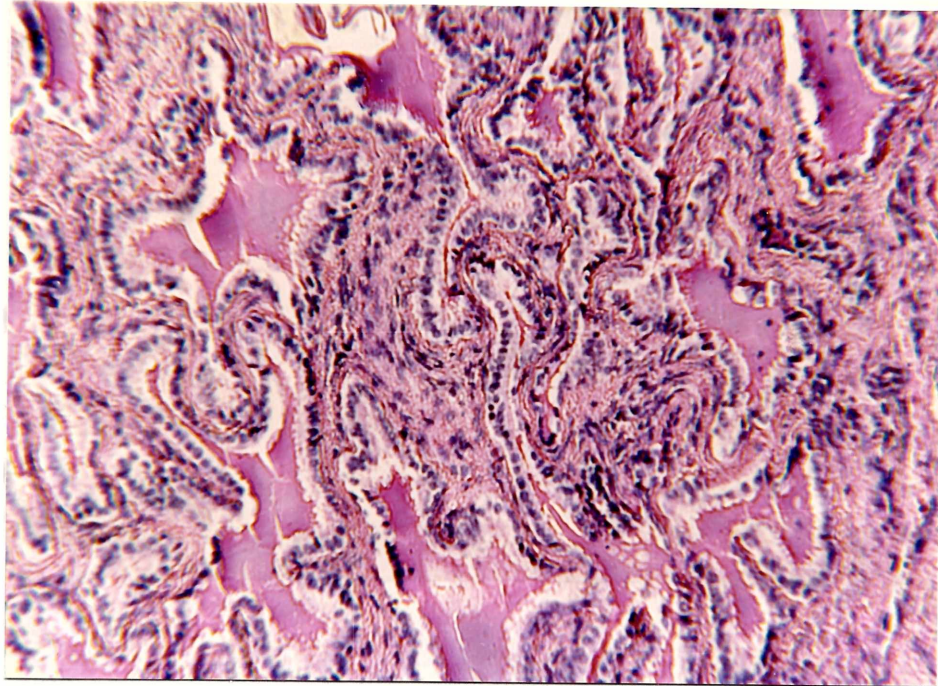


FOTO N°46 - Hipoplasia de vesícula seminal. Se observa la pérdida de la relación epitelio-tejido intersticial, con predominio del último. (x100). Hematoxilina-eosina.

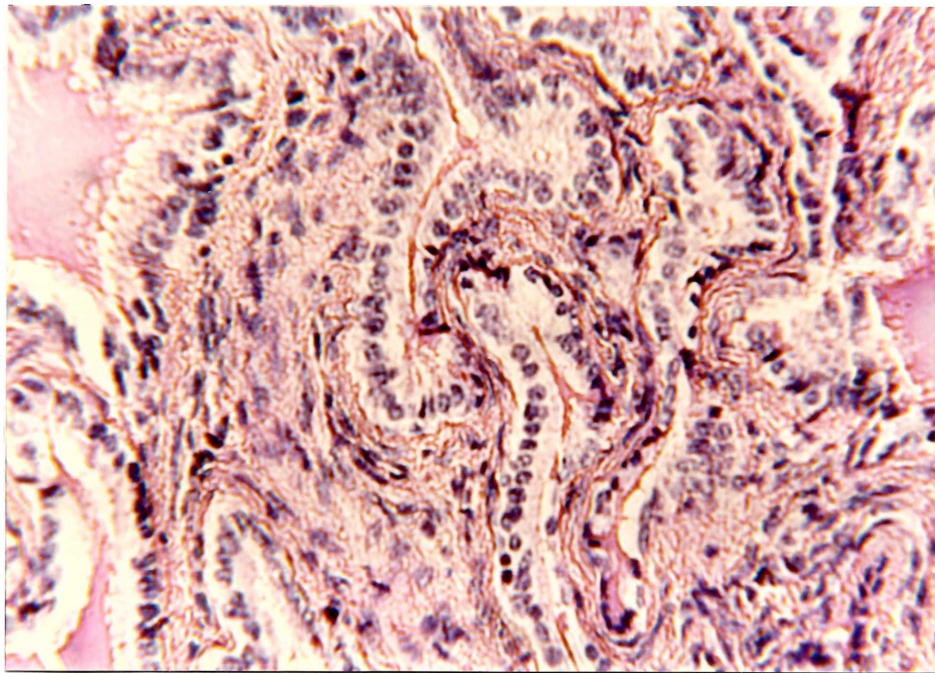


FOTO N°47 - Hipoplasia de vesícula seminal: Nótese la abundante cantidad de tejido conectivo y la poca altura de las células epiteliales, comparadas con células normales (foto N°44).(x200). Hematoxilina-eosina.

9 - RESUMEN

En este trabajo se describen hallazgos bacteriológicos y patológicos de órganos genitales correspondientes a 100 toros procedentes de matadero; asimismo se presentan datos serológicos de los mismos animales.

Se aisló Brucella abortus de dos toros con epididimitis y vesiculitis; el medio agar triptosa suero con antibióticos resultó eficaz para controlar el sobrecrecimiento de los contaminantes en el 86,7% de los casos.

Corynebacterium bovis fue aislado de un toro con vesiculitis.

Se detectaron aglutininas brucélicas en el suero del 42% de los toros; sólo el 12,1% de los reactores tenía títulos \geq a 1/100. El 68% de los animales que tenían lesiones inflamatorias en sus órganos genitales presentó anticuerpos a brucelosis. La prueba de la tarjeta se comportó como una buena prueba tamiz. Se destaca la importancia del empleo de las pruebas complementarias y de la fijación de complemento en el diagnóstico de la enfermedad.

Un 81,8% de los toros tenía anticuerpos aglutinantes a leptospirosis con títulos \geq a 1/200. Para el serogrupo Sejroe se observó un 32,3% de reactores al serovar hardjo, 2% al serovar wolffi y 46,4% para ambos serovares.

Las alteraciones patológicas más significativas encontradas en prepucio y pene fueron: balanitis, en el 8,2% de los casos; prolapso prepucial y remanentes de frenillo prepucial, en el 2% y fístula uretral, en el 1%. En testículos se registró una alta frecuencia de adherencias de la vaginal y de degeneración testicular de diversos grados, en porcentajes del 30,1% y 21,5% respectivamente; asimismo se encontraron otras lesiones tales como mineralización testicular, presente en el 16,1% de los animales; orquitis, en el 7,5% y tumor de células de Sertoli, edema y hemorragia en el 1,1%. Las alteraciones patológicas del epidídimo fueron las siguientes, en orden de frecuencia: adherencias, 10,5%; epididimitis, 8,1% e hipoplasia de cola epididimaria, 1,2%. El 15,8% de los toros presentó afecciones de tipo inflamatorio en sus vesículas seminales, registrándose un solo caso de hipoplasia. Las alteraciones patológicas fueron generalmente más frecuentes en animales viejos. Se discuten aspectos de patogenia y caracterización de las lesiones observadas.

No se pudo encontrar correlación entre los estudios bacteriológicos, serológicos y patológicos efectuados.

10 - SUMMARY

In this work bacteriological and pathological findings from the genital organs of 100 bulls from a slaughter house are described and serological results are presented.

Brucella abortus was isolated from two bulls with epididymitis and vesiculitis; the medium serum tryptose agar with antibiotics was effective in controlling overgrowth of contaminants in the 86,7% of the cases.

Corynebacterium bovis was isolated from a bull with vesiculitis.

Brucellar agglutinines were detected in serum from 42% of the bulls; only 12,1% of the reactors had titles $\geq 1/100$. Sixty eight per cent of the animals that had inflammatory lesions in their genital organs had antibodies to brucellosis. The importance of the use of the complementary and complement fixation tests in the diagnosis of the disease is emphasized.

Agglutinating antibodies to leptospirosis with titles $\geq 1/200$ were observed in 81,8% of the bulls. For the Sejroe serogroup 32,3% of reactors to serovar hardjo, 2% to serovar wolffi and 46,5% for both serovars were observed.

The most significant pathological alterations found in prepuce and penis were: balanitis in 8,2% of the cases, preputial prolapse and preputial frenulum remnants in 2% and urethral fistula in 1%. In testicles a high frequency of vaginal adherences and several degrees of testicular degeneration were registered in 30,1% and 21,5% respectively. Other lesions such as testicular mineralization, present in 16% of the animals, orchitis, in 7,5%, and Sertoli cells tumour, oedema and hemorrhage, in 1,1%, were found. The pathological alterations of epididymis were in frequency order as follows: adherences 10,5%, epididymitis 8,1% and hypoplasia of the epididymal tail 1,2%. Fifteen per cent of the bulls showed affections of inflammatory type in seminal vesicles and only one case of hypoplasia was registered. The pathological alterations generally were more frequent in old animals. Characterization of the lesions found and aspects of pathogeny are discussed. It was not found a correlation between the bacteriological, pathological and serological studies carried out.

11 - AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. ADOLFO CASARO con quien aprendí no sólo a interpretar alteraciones patológicas, sino también muchas otras cosas. Entre ellas, debo mencionar: la constante necesidad de superación, la permanente autoexigencia intelectual, el profundo respeto por nuestra profesión, la continua búsqueda de ideales. También aprendí, que los logros sólo son posibles cuando están avalados por "sobredosis" de responsabilidad y dedicación, y cuando el accionar se efectúa en equipo. Trabajar junto al Dr. Casaro, me ha permitido desarrollar no sólo la ejecución de mis proyectos como becaria, sino también el contacto con el medio rural de un modo más estrecho, a través de la interacción con veterinarios de la actividad privada y productores.

Agradezco además al Dr. Casaro, su excelente humor, su valiosa colaboración en los estudios patológicos, sus apreciables críticas y sugerencias en la redacción del trabajo y en particular, quisiera expresarle mi agradecimiento, por todo el apoyo que siempre me brindó, sin el cual la realización de esta tesis hubiera sido imposible.

- Al Dr. CARLOS CAMPERO por sus aportes en el diseño del proyecto, por su continua cooperación en la obtención y procesamiento de las muestras, y su asesoramiento en la aplicación de algunas de las metodologías empleadas.

~ A la Dra. ANGELA ZAMORA por su desinteresada ayuda en la ejecución de las técnicas bacteriológicas y serológicas utilizadas y la correcciones efectuadas en el manuscrito. Debo mencionar que la Dra. Zamora, es una persona a quien le debo especial respeto no sólo desde el punto de vista laboral (por el criterio con el que trabaja), sino también desde el punto de vista espiritual (por su calidad humana y honestidad, poco habituales en estos tiempos).

- Al Dr. MARIO PALLADINO por su colaboración técnica, asesoramiento metodológico y aportes en la recopilación de la bibliografía consultada.

- Al Dr. ANSELMO ODEON, por la obtención de las fotografías.

- A los ingenieros JOSE LUIS BUSTAMANTE y SIMON VULICH, quienes efectuaron el análisis estadístico de los datos obtenidos.

- A los ayudantes de campo HUGO ERQUIAGA y GUILLERMO DI GERONIMO, por la inestimable colaboración y permanente esfuerzo demostrado durante todo el transcurso del ensayo.

- A las ayudantes del laboratorio de Histopatología, ADELA POSO, TERESA DE LUCA y DORA CAND por la preparación de los cortes histológicos. También quisiera agradecerle muy especialmente a la Srta. Poso su colaboración en la obtención y procesamiento de las muestras, ya que esto implicó la mayoría de las veces, doce horas continuas de trabajo a partir de las 4hs. de la madrugada, para lo cual se necesitan tres cosas: interés, paciencia y humor, que en ella son condiciones innatas.

- A los ayudantes del laboratorio de Bacteriología, MABEL ALTUNA, MIRTA SPINA, GRACIELA FASCELLA, NATIVIDAD FERREYRA, CLAUDIA MORSELLA, ROSANA MALENA y DANIEL GIULIANO por la dedicación y esmero con el que trabajaron en la preparación de medios de cultivo, procesamiento de muestras para bacteriología y serología, y atención de los animales de laboratorio. Agradezco a las Srtas. Morsella y Malena, la ayuda prestada en el ordenamiento de las citas bibliográficas.

- Al personal de la Secretaría del Dpto. de Producción Animal, que posibilitó el mecanografiado del manuscrito.

- ACHA, F.N. y SZYFRES, E. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Pub. Cient. 354. O.P.S./O.M.S.
- AFSHAR, A. 1966. Genital disease of cattle associated with Mycoplasma. The Vet. Bull. 37: 879-884.
- AFSHAR, A.; STUART, F. and HUCK, R.A. 1966. Granular vulvo-vaginitis (nodular venereal disease) of cattle associated with Mycoplasma bovigenitalium. The Vet. Rec. 76: 512-519.
- AFSHAR, A. 1967. Genital disease of cattle associated with Mycoplasma. The Vet. Bull. 37: 879-884.
- AFSHAR, A. 1975. Diseases of bovine reproduction associated with Mycoplasma infections. The Vet. Bull. 45: 211-216.
- AGUIRRE, W.G. 1981. Control y lucha contra la leptospirosis. Diagnóstico de Laboratorio. Curso sobre problemas sanitarios y no sanitarios que afectan la eficiencia reproductiva de los bovinos; un enfoque epidemiológico. F.C.V. U.N.C.F.B.A. Tandil.
- AL-AUBAIDI, J.M. and FABRICANT, J. 1966. Technics for the isolation of Mycoplasma from cattle. Cornell. Vet. 58: 565-571.
- AL-AUBAIDI, J.M.; MC ENTEE, K.; LEIN, D.H. and Roberts, S.J. 1972. Bovine seminal vesiculitis and epididymitis caused by Mycoplasma bovigenitalium. Cornell. Vet. 62: 581-596.
- ALBERTSEN, S.E. 1956. Pleuropneumonia like organisms in the semen of danish artificial bull. Nord. Vet. Med. 7: 169-201.
- ALMEIDA, R.A. 1982. Neumonía en terneros de campo. Etiología y patología. Rev. Med. Vet. 63 (3):157-172.
- ALTON, G.G. and JONES, L.M. 1964. Laboratory techniques in Brucellosis. Animal Health Branch. Monograph No. 2.
- ALTON, G.G.; MAW, J.; ROGERSON, B.A. and MC PHERSON, G.G. 1975. The serological diagnosis of bovine brucellosis: An evaluation of the complement fixation serum agglutination and Rose Bengal tests. Aust. Vet. J. 51: 57-63.
- AMANN, R.P. and SCHANBACHER, B.D. 1983. Physiology of male reproduction. J. Anim. Sci. 57. Suppl. 2: 380-403.
- AMATREDO, A. and CAMPBELL, R.S.F. 1975. Bovine Leptospirosis. The Vet. Bull. 43 (12):875-891.
- ANDRE FONTAINE, G. 1980. Les vaccins anti-brucelliques en France. Rec. Méd. vét.

156 (6): 433-437.

- ARRIGO, J.L.; TERZOLO, H.R.; CASARO, A. y VILLAR, J. 1984. Neumonía enzoótica ovina. Rev. Med. Vet. 65 (2): 74-84.
- ASHDOWN, R.R. 1958. Aplasia segmentalis ductus wolffii: a report of two cases in British Friesian bulls. The Vet. Rec. 70: 467-469.
- ASHDOWN, R.R. 1962. Persistence of the penile frenulum in young bulls. The Vet. Rec. 74 (50): 1464-1468.
- BAGSHAW, P.A. and LADDS, P.W. 1974 a. Pathology of the accessory sex glands of the bull. The Vet. Bull. 44: 343-348.
- BAGSHAW, P.A. and LADDS, P.W. 1974 b. A study of the accessory sex glands of bulls in abattoirs in Northern Australia. Aust. Vet. J. 50: 489-495.
- BALL, L.; GRINER, L.A. and CARROLL, E.J. 1964. The bovine seminal vesiculitis syndrome. Am. J. Vet. Res. 25: 291-302.
- BALL, L.; YOUNG, S. and CARROLL, E.J. 1968. Seminal vesiculitis syndrome: Lesions in genital organs of young bulls. Am. J. Vet. Res. 29 (6): 1173-1184.
- BALL, H.J.; NEIL, S.D.; ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J. and FERGUSON, H.W. 1978. The isolation of Mycoplasma from bovine fetuses and their dams. Br. Vet. J. 134: 584-589.
- BARKER, C.A.V. 1956. Some observations on testicular calcification in bulls. Can. J. Comp. Med. 20: 37-50.
- BARTLETT, D.E., LARSON, L.L. PARKER, W.G. and HOWARD, T.H. 1976. Specific Pathogen Free (S.P.F.) Frozen Bovine Semen: A goal? Proceedings of the Sixth Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction NAAB.:11-22.
- BELLENGER, C.R. 1971. Bull wastage in beef cattle. Aust. Vet. J. 47: 83-90.
- BHAGWAT, S.S.; DESHPANDE, K.S. and PUROHIT, B.L. 1972. Bovine seminoma. Indian vet. J. 49: 1084-1085.
- BISHOP, M.W.H. 1970. Ageing and reproduction in the male. J. Reprod. Fert. Suppl. 12: 65-87.
- BISHOP, M.W.H. 1972. Genetically determined abnormalities of the reproductive system. J. Reprod. Fert. Suppl. 15: 51-78.
- BLACKMORE, D.K.; MARSHALL, R.B. and INGRAM, B.R. 1976. An epidemiological investigation of leptospirosis at an artificial Breeding Centre. N.Z. Vet. J. 24: 253-262.

- BLANCHARD, M.G. and JOSSO, N. 1974. Source of antimullerian hormone synthesized by fetal testis: Mullerian inhibiting activity of fetal bovine sertoli cells in tissue culture. *Pediatr. Res.* 8: 966-971.
- BLOM, E. and ERNØ, H. 1970. Mycoplasmas in semen of Danish breeding bulls. In *Proc. II Nord. Vet. Congr. Bergen*, p. 254.
- BLOM, E. 1982. Aplasia of the Ductuli Efferentes—a New Sterilizing Congenital Syndrome in the Bull — *Nord. Vet. Med.* 34: 431-434.
- BLOM, E. 1983. Pathological Conditions in the Genital Organs and in the semen as ground for Rejection of Breeding Bulls for Import or Export to and from Denmark. *Nord. Vet. Med.* 35 :105-130.
- BOLETIN SANITARIO REGIONAL. 1987. Año II. Marzo-Junio E.E.A INTA Balcarce: 6-8.
- BOUGHTON, E. 1975. Mycoplasma bovis mastitis. *The Vet. Bull.* 49 (6): 377-387.
- BOUTERS, R. 1954. A virus with enterogenic properties causing degeneration of the germinal epithelium in bulls. *Nature, Lond.* 201: 217-218.
- BRANNY, J. and ZEMBALA, M. 1971. Some characteristics of viruses isolated from bull semen and their possible pathogenicity. *Br. Vet. J.* 127: 88-92.
- BUCHANAN, R.E.; GIBBONS, N.E.; COWAN, S.T.; HOLT, J.G.; LISTON, J.; MURRAY, R.G.; NIVEN, C.F.; RAVIN, A.W. and STAINER, R.Y. 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8 th. Ed. Baltimore (USA) Williams and Wilkings.
- BURDIN, M.L.; FROYD, G. and ASHFORD, W.A. 1958. Leptospirosis in Kenia due to *Leptospire grippotyphosa*. *The Vet. Rec.* 70: 830-834.
- CACCHIONE, R.A.; CASCELLI, E.S.; SARAVI, M.A. y MARTINEZ, E.S. 1980. Difusión e importancia de las leptospirosis animal y humana en la Argentina. *Rev. Med. vet.* 61 (3): 236-247.
- CACCHIONE, R.A. 1981. Actualización en leptospirosis. Enfermedad en animales y en el hombre. Curso sobre problemas sanitarios y no sanitarios que afectan la eficiencia reproductiva de los bovinos; un enfoque epidemiológico F.C.V. U.N.C.P.B.A. Tandil.
- CAMPERO, C.M. 1985. Revisación de toros: aspectos clínicos y patológicos. *Boletín Veterinario N°33*. E.E.A INTA Balcarce.
- CANTER, D. 1972. Ulcerative lesions of bulls. *The Vet. Rec.* 91: 197-198.
- CARROLL, E.J.; BALL, L. and SCOTT, J.A. 1963. Breeding soundness in bulls—a

- Summary of 10940 examinations. J.A.V.M.A. 142: 1105-1111.
- CARROLL, E.F.; AANES, W.A.; and BALL, L. 1964. Persistent frenulum in bulls. J.A.V.M.A. 144 (7): 747-749.
- CARTER, G.R. 1979. Diagnostic procedures in veterinary Bacteriology and Micology. Third Edition. Charles C. Thomas Publisher. Illinois, USA.
- CASARO, A. y BALLABENE, A. 1970-1971. Patología genital en toros. Informe de actividades. Sumario del Dpto. de Prod. Animal: E.E.A INTA Balcarce: 15.
- CASAS OLASCOAGA, R. 1976. Diagnóstico serológico de la brucelosis. Zoonosis. Bol. trimestral. Centro Panamericano de Zoonosis OPS/OMS 18: 107-146.
- CEDRO, V.C.F.; CISALE, H.O.; FORTI DE MENALDO, L.R.A. y ALVAREZ, N.O. 1967. Brucelosis en toros. Títulos aglutinantes y diagnóstico bacteriológico. Revista de investigaciones Agropecuarias INTA. Serie 4. Patología Animal IV (1): 1-8.
- CEDRO, V.C.F.; CISALE, H.O.; FORTI de MENALDO, L.R.A.; BERNARDELLI, A.A.; GONZALEZ TOME, J.S. y ALVAREZ, N.O. 1968. Brucelosis en toros. Correlación entre distintas técnicas diagnósticas y el aislamiento del agente etiológico. Revista de investigaciones Agropecuarias. INTA. Serie 4. Patología Animal V(2): 9-13.
- CEDRO, V.C.F.; GONZALEZ TOME, J.; DEL PALACIO, E. y GIL, R. 1978-1979. Primer aislamiento de Brucella biotipo 2 en bovinos de la República Argentina Información casuística. R.I.A. INTA. Serie IV. Patología Animal Vol. XIV (1): 9-11.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. 1968. Técnicas e interpretación de las pruebas de seroaglutinación para el diagnóstico de la Brucelosis bovina. Nota técnica N°2. Rev. 1.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. 1971. Vacuna Brucella abortus, cepa 19. Nota técnica N°4. Rev. 1.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. 1982. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de la Brucelosis bovina. Nota técnica N°25.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. 1985. Leptospirosis. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio. Nota técnica N°30.
- CIPOLLA, A.L.; PALLADINO, M.R.; CAMPERO, C.M.; ZAMORA, A.S. y CASARO, A.P. 1984. Aislamiento y tipificación de Campylobacter en toros enviados a faena. Vet. Arg. 1 (4): 353-360.

- COLE, J.R.; SULZER, C.F. and PURSELL, A.F. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol.* 25:976-980.
- COLLINS, W.E.; INSKEEP, E.K.; DREHER, W.H.; TYLER, W.J. and CASIDA, L.E. 1962. Effect of age on fertility of bulls in Artificial Insemination. *J. Dairy Sci.* 45-8: 1015-1018.
- CORBEL, M.J.; GILL, K.P.W. and E.L. THOMAS. 1978. Methods for the identification of *Brucella*. Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Research Section. Central Vet. Lab. New Haw. Weybridge pp: 1-53.
- COTEW, G.S. 1970. Mycoplasmas isolated from cattle in Australia. *Aust. Vet. J.* 46: 378-381.
- COULTER, G.H. and FOOTE, R.H. 1979. Bovine testicular measurements as indicators of reproductive performance and their relationship to productive traits in cattle: a review. *Theriogenology.* 11(4): 297-311.
- COULTER, G.H. 1980. Testicular development: its management and significance in young beef bulls. *Proc. 8th tr. Tech. Conf. Nat. Assoc. Anim. Breeders,* Columbia. p.106.
- COUROT, M. 1980. The regulation of testicular functions by pituitary gonadotrophins. IX Congreso Int. de Rep. Anim. e I.A. Vol. II: 155-162. Madrid.
- COWAN, S.T. and STEEL, K.J. 1979. Manual for the identification of medical bacteria. 2^o Edition. Cambridge University Press.
- CRUICKSHANK, R.; DUGUID, J.P.; MARMION, B.P. and SWAIN, R.H.A. 1975. Medical Microbiology. 12^o Edition Vol. II. Churchill Livingstone. Edinburgh.
- CHRISTIE, T.E., KEER, W.R. and MC CAUGHEY, W.J. 1968. Brucellosis eradication in Northern Ireland. *The Vet. Rec.* 82(7): 176-183.
- DACRES, W.G. and KIESEL, G.K. 1958. Isolation of *Leptospira pomona* from a bovine fetus. *J.A.V.M.A.* 15: 525-526.
- DAVIS, B.D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.N.; GINSBERG, H.S. and BARRY WOOD JR., W. 1976. Tratado de Microbiología. 2^o Edición. Editorial Salvat. Barcelona.
- DEAS, D.W.; JOHNSTON, W.S. and Vantsis, J.T. 1966. The isolation of Parainfluenza III virus from the testicles of an infertile bull. *The Vet. Rec.* 78: 739-740.
- DE DIEGO, A. 1974. Guía para el estudio de las enfermedades infecciosas de los

animales (aves y mamíferos). Primera edición. Talleres Gráficos Farro.
Buenos Aires.

DE DIEGO, A. 1981. Brucelosis bovina. Control y lucha. Curso sobre problemas sanitarios y no sanitarios que afectan la eficiencia reproductiva de los bovinos; un enfoque epidemiológico. F.C.V. U.N.C.P.B.A. Tandil.

DELLMANN, H.D. and BROWN, E. 1976. Veterinary Histology. Lea & Febiger. Philadelphia: 291-316.

DE OLIVEIRA, S.J. 1977. Presença de aglutininas antileptospiras em suínos e bovinos, com e sem sinais de infecção, no Rio Grande do Sul. Boletim IPVDF (Especial 4): 57-64.

DERIVAUX, J. 1976. Reproducción de los animales domésticos. 2da. Edición española. Editorial Acribia. Zaragoza. España: 242-276.

DI LORENZO, C. 1986. Brucelosis Bovina: vacunación concépa 19. 1º parte. Rev. Mec. Vet. 67 (2): 82-85.

DOIG, P.A. 1981. Bovine genital Mycoplasmosis. Can. Vet. J. 22: 339-343.

DONALDSON, L.E. and AUBREY, J.N. 1960. Posthitis and prolapse of the prepuce in cattle. Aust. Vet. J. 36: 380-383.

DONALDSON, L.E., LUCAS, M.H., JOHNSTON, L.A.Y. and RITSON, J.B. 1967. The reproductive efficiency of several North Queensland beef herds. 2. The influence of Vibriosis, Trichomoniasis and lesions of the reproductive tract. Aust. Vet. J. 43: 41-44.

DUNN, H.O and MC ENTEE, K. 1964. Semen quality and fertility in dairy bulls with testicular tumours. Int. J. Fert. 9: 613-617.

ELLIS, W.A. and MICHNA, S.W. 1976a. Bovine leptospirosis: a serological and clinical study. The Vet. Rec. 99: 387-391.

ELLIS, W.A. and MICHNA, S.W. 1976 b. Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and abortion. A herd study. The Vet. Rec. 99: 409-412.

ELLIS, W.A.; O'BRIEN; J.J.; PEARSON, J.K.L. and COLLINS, D.S. 1976. Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and mastitis. The Vet. Rec. 99: 368-370.

ELLIS, W.A.; MONTGOMERY, J. and CASSELS, J.A. 1985. Dihydrostreptomycin treatment of leptospire infected cattle. Res. Vet. Sci. 39: 292-295.

ELLIS, W.A.; CASSELS, J.A. and DOYLE, J. 1986 a. Genital leptospirosis in bulls.

The Vet. Rec. 118:333.

ELLIS, W.A.; SONGER, J.G.; MONTGOMERY, J. and CASSELS, J.A. 1986b. The Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle. The Vet. Rec, 118: 11-13.

ELLIS, W.A. and THIERMANN, A.B. 1986. Isolation of leptospire from the genital tracts of Iowa cows. Am. J. Vet. Res. 47 (8): 1694-1696.

ERNØ, H. and BLOM, E. 1972. Mycoplasmosis: experimental and spontaneous infections of the genital tract of bulls. Acta Vet. Scand. 13: 161-174.

ERNØ, H. 1974. Bovine Mycoplasmas: cultural biochemical immunological and pathogenicity studies. Published by University of Aarhus: 1-95.

FAULKNER, L.C., HOPWOOD, L.M., MASKEN, J.F., KINGMAN, H.E., and STODDARD, H.L. 1967. Scrotal frostbite in bulls. J.A.V.M.A. 151 (5): 602-606.

FISH, N., ROSENDAL, S. and MILLER, R.B. 1985. The distribution of Mycoplasmas and ureaplasmas in the genital tract of normal artificial insemination bulls. Can. Vet. J. 26: 13-15.

FOOTE, R.H. 1978. Factors influencing the quantity and quality of semen harvested from bulls, rams, boars and stallions. J. Anim. Sci. 47 (Suppl.2):1.

FRASER, A.F. and WILSON, J.C. 1966. Testicular calcinosis in Domestic Ruminants. Nature. 210. (5035):.547.

FREUNDT, E.A., ERNØ, H. and LAMCKE, R.M. 1979. Identification of Mycoplasmas. Methods in Microbiology. Academic Press. London. Edt. Bergat, Norris, J.R. 13: 378-434.

GALLOWAY, D.B. 1961. Testicular pathology in bulls sent for slaughter in N.S.W. A preliminary survey. Aust. Vet. J. 37: 335-341.

GALLOWAY, D.B. 1964. A study of bulls with the clinical signs of seminal vesiculitis. Acta Vet. Scand. 5:(2).1-122.

GALTON, M.M.; ACREE, J.A.; LEWIS, A. y PRATHER, E.C. 1956. Leptospirosis in domestic animals in Florida with reference to cattle. Jacksonville, Florida. J.A.V.M.A. :87-91.

GALTON, M.M.; SULZER, C.R.; SANTA ROSA, C.A. and FIELDS, M.J. 1966. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies Appl. microbiol. 13: 81-85.

GARCIA CARRILLO, C., SZYFRES, B. y GONZALEZ TOME, J. 1972. Tipificación de Bru

cellas aisladas del hombre y los animales en América Latina. Rev. Lat-amer. Microbiol. 14: 117-125.

GARCIA CARRILLO, C. 1981. Diagnóstico, profilaxis, tratamiento, control e importancia económica de la brucelosis. Curso sobre problemas sanitarios y no sanitarios que afectan la eficiencia reproductiva de los bovinos; un enfoque epidemiológico. F.C.V. U.N.C.P.B.A. Tandil.

GARCIA CARRILLO, C.; TUROVETZKY, A. y LUCERO, N. 1985. Especies y biotipos de *Brucella* aislados del hombre en la Argentina. Comprobación de la infección humana por *B. abortus* biotipo 4. Medicina (Buenos Aires) 45: 20-21.

GARIN, B.; TRAP, D. et GAUMONT, F. 1983. Élimination des réactions sérologiques non-spécifiques dans le diagnostic de la brucellose bovine. Intérêt de l'emploi d'EDTA. Revue Bibliographique. Bull. Lab. Vét. 12:1-4.

GLEDHILL, B.L. 1973. Inherited disorders causing infertility in the bull. J.A.V.M.A. 162: 979-982.

GONZALEZ TOME, J.S.; del PALACIO RODRIGUEZ E. y SAMARTINO, L.E. 1985. Brucelosis Bovina: brote producido por el biotipo 2 de *Brucella abortus*. Vet. Arg. II (17): 657-660.

GONZALEZ TOME, J.S.E., del PALACIO RODRIGUEZ, E. y SAMARTINO, L.E. 1987a. Brucelosis bovina: eliminación de reaccionantes al 2-Mercaptoetanol y rápida disminución de la prevalencia brucélica en un rodeo de cría altamente infectado Vet. Arg. IV (31) 71-81.

GONZALEZ TOME, J.S.; del PALACIO, E. y SAMARTINO, L.E. 1987b. Brucelosis Bovina: Revacunación de hembras adultas serológicamente negativas con dosis reducida de *Brucella abortus* cepa 19. Vet. Arg. IV (34):342-347.

GOURLAY, R.N. 1973. Significance of Mycoplasma infections in cattle. J.A.V.M.A. 163 (7): 905-909.

HAFEZ, E.S.E. 1984. Reproducción e inseminación artificial en animales. 4ª Edición. Editorial Interamericana, México.

HALL, C.E. and MC ENTEE, K. 1981. Reduced post-thawing survival of sperm in bulls with mycoplasmal vesiculitis. Cornell Vet. 71 (1): 111-112 .

HAMDY, A.H. and MILLER, C.C. 1971. Antibiotics for bovine mycoplasmas. J. Dairy Sci. 54: 1541-1544.

HANSON, L.E.; TRIPATHY, D.N. and KILLINGER, A.H. 1972. Current Status of leptospirosis immunization in swine and cattle J.A.V.M.A. 161: 1236-1243.

HANSON, L.E. 1973. Immunologic problems in bovine leptospirosis. J.A.V.M.A. 163: 919-921.

- HARTMANN, H.A.; TOURTELLOTE, M.E.; NIELSON, S.W. and PLASTRIDGE, W.N. 1964. Experimental bovine uterine mycoplasmosis, Res. Vet. Sci. 5: 303-310.
- HASELTINE, F.P. and OHNO, S. 1981. Mechanisms of gonadal differentiation. Science. 211: 1272-1278.
- HATHAWAY, S.C. 1981. Leptospirosis in New Zealand: an ecological view. N.Z.Vet. J. 29: 109-112.
- HENDRICKS J.B. (1986). Comunicación personal.
- HIGGINS, R.J. ; HARBOURNE, J.F.; LITTLE, T.W.A. and STEVENS, A.E. 1980. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with leptospira of the serotype hardjo. The Vet. Rec. 107: 307-310.
- HIRTH, R.S.; NIELSEN, S.W. and PLASTRIDGE, W.N. 1966. Bovine salpingoophoritis produced with semen containing a mycoplasma. Path. Vet. 3: 616-632.
- HOARE, M. and HAIG, D.A. 1964. Isolation of Mycoplasma sp. from the oviducts of dairy cows. The Vet. Rec. 76: 956-957.
- HOARE, M. 1969. A survey of the incidence of Mycoplasma infection in the oviducts of dairy cows. The Vet. Rec. 85: 351-355.
- HODGES, R.T.; CARTER, M.E.; ALMAND, K.B.; WEDDELL, W.; HOLLAND, J.T.S.; LEWIS, S.F. and LAKE, D.E. 1979. An evaluation of the semiautomated complement fixation test for the serological diagnosis of bovine leptospirosis. N.Z. Vet. J. 27: 101-102.
- HODGES, R.T. and HOLLAND, J.T.S. 1980. The recovering of ureaplasmas from the semen and prepuce of bulls. N. Z. Vet. J. 28: 89-90.
- HOLY, L. 1983. Bases biológicas de la reproducción bovina. 1ra. Edición. Editorial Diana. S.A. México.
- HUCK, R.A.; MILLAR, P.G.; EVANS, P.H.; STABLES, J.W. and ROSS, A. 1971. Penoposthitis associated with infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus in a stud of bulls. The Vet. Rec. 88 (12): 292-297.
- HUMPHREY, J.D. and LADDS, P.W. 1975a. Pathology of the bovine testis and epididymis. The Vet. Bull. 45: 787-797.
- HUMPHREY, J.D. and LADDS, P.W. 1975b. A quantitative histological study of changes in the bovine testis and epididymis associated with age. Res. Vet. Sci. 19: 135-141.
- JAKOBSEN, K.F.; VILLAR, J.A. y CASARO, A.P. 1967. Fertilidad en vacunos para carne. 1. Fertilidad potencial de toros. Boletín Técnico N°57 E.E.R.A.

INTA Saicarce ps. 12.

- JANSEN, B.C. 1980. The aetiology of ram epididymitis. Onderstepoort. J. Vet. Res. 47: 101-107.
- JASPER, D.E.; AL-AUBAIDI, J.M. and FABRICANT, J. 1974. Isolation of Mycoplasma from preputial washings of bulls. Cornell Vet. 64: 296-302.
- JOHNSON, Ch.A. 1983. The role of the fetal testicle in sexual differentiation. The compend. Contin. Educ. Small Anim. Pract. 5 (2): 129-132.
- JOINT FAO/WHO. Expert Committee on Brucellosis. 1986. Sixth Report. Technical report series 740 Geneva.
- JONES, R.K. 1956. Study of the viability of leptospira pomona in frozen extended bovine semen. J.A.V.M.A. 15: 216-218.
- JONES, T.H.; BARRETT, K.J.; GREENHAM, L.W.; OSBORNE, A.D. and ASHDOWN, R.R. 1954. Seminal vesiculitis in bulls associated with infection by Actinobacillus actinoides. Vet. Rec. 75: 24-26.
- JOSSO, N.; PICARD, J. Y. and FRAN, D. 1977. The antimüllerian hormone. Recent Prog. Horm. Res. 33: 117-167.
- JOST, A.; VIGIER, B.; PREPIN, J. and PERCHELLET, J.P. 1973. Studies on sex differentiation in mammals. Rec. Prog. Horm. Res. 29: 1-41.
- JUBE, K.V.F. and KENNEDY, P.C. 1976. Patología de los animales domésticos. Primera Edición. Editorial Labor S.A. Barcelona. Tomo I: 523-570.
- JURMANOVA, K.; CERNA, J. and JIRANEK, E. 1977. Findings of Mycoplasmas in the ejaculates of bulls from the insemination stations of the East-Bohemian Region. Vet. Med. Praha. 22 (2): 81-90.
- JURMANOVA, K. and STERBOVA, L. 1977. Correlation between impaired spermatozoan motility and Mycoplasmas findings in bull semen. The Vet. Rec. 100: 157-158.
- JURMANOVA, K.; WEZNIUK, Z.; CERNA, J. and MAXUROVA, J. 1983. Demonstration and role of Mycoplasma and ureaplasma in bull semen and the control of mycoplasma infections in bulls. Arch. exp. Vet. Med. 37: 421-428.
- KANAGAWA, H. 1960. Anatomical and pathological studies on the sex organs from slaughtered bulls in Hokkaido. I. Anatomical findings. Jap. J. Vet. Res. 8: 251-260.
- KANAGAWA, H. 1961. Anatomical and pathological studies on the sex organs from slaughtered bulls in Hokkaido; III. Pathological findings. Jap. J. Vet.

Res. 9: 14-22.

- KENNEY, R.M. 1971. Selected diseases of the testicle and epididymis of the bull. Proceedings VI International Conference on Cattle diseases, 1971. American Association of Bovine Practitioners, Oklahoma, USA: 295-314.
- KEPPIE, J. 1964. Host and tissue specificity, in microbial behaviour "in vivo" and "in vitro". Proc. 14 th Symp. Soc. General Microbiology. London. Cambridge University Press, London: 44-63.
- KIMBALL, A.; TWIEHANS, M.J. and FRANK, E.R. 1954. Actinomyces bovis isolated from six cases of bovine orchitis. A preliminary report. Am. J. Vet. Res. 15: 551-553.
- KNACKFUSS VAZ, A; e de OLIVEIRA, S.J. 1978. Títulos aglutinantes para leptospi-
ra de touros usados em inseminação artificial no Rio Grande do Sul. Bo-
letim do Instituto de Pesquisas Veterinarias "Desiderio Finamor", 5: 25-
26.
- KNOTT, S.G. and DADSWELL, L.P. 1970. An outbreak of bovine abortions associa-
ted with leptospirosis. Aust. Vet. J. 46: 385-386.
- KNUDSEN, O. 1961 a. Sticky chromosomes as a cause of testicular hypoplasia in
bulls. Acta Vet. Scand. 2: 1-14.
- KNUDSEN, O. 1961b. Testicular hypoplasia with multipolar spindle formation in
the spermiocytes of the bull. Acta Vet. Scand. 2: 199-205.
- KONIG, H.; WEBER, W. and KUPFERSCHMIED, H. 1972. Zur Nebenhodenaplasie beim
stier and Eber. Schweizer Arch. Tierneilk. 114: 73-82.
- KUMI-DIAKA, J. 1979. Clinical and anatomical studies on the scrotal and pelvic
genitalia of Sokoto Gudali bulls in Northern Nigeria. Res. in Vet. Sci.
26: 122-123.
- KUMI-DIAKA, J.; NJOKU, C.O. and OSORI, D.I.O. 1980. Effect of scrotal strep-
tothricosis on spermatogenesis in the bull. The Vet. Rec. 107 (23) :
525-527.
- LADDS, P.W., DENNETT, D.P. and GLAZEBROOK, J.S. 1973. A survey of the genita-
lia of bulls in Northern Australia. Aust. Vet. J. 49: 335-340.
- LADDS, P.W. and SAUNDERS, P.J. 1976. Sertoli cell tumours in the bull. J.
Comp. Path. Vol. 86: 503-508.
- LAKE, D.E. 1973. Bovine leptospirosis. N.Z. Vet. J. 21:52.

- LA FAUNCE, N.S. and MC ENTEE, K. 1982. Experimental Mycoplasma bovis seminal vesiculitis in the bull. Cornell. Vet. 72 (2): 150-167.
- LAGNEAU, F. 1961. Balano-postitis de origen traumático en el toro. Gac. Vet. XXV (153): 165-170.
- LAMBERT, G.; MATHEI, C.D. and DEYOE, B.L. 1963. Studies on Brucella abortus. Infection in bulls. Am. J. Vet. Res. 24: 1153-1157.
- LAMBERT, G.; DEYOE, B.L. and PAITER, G.M. 1964. Post vaccina persistence of Brucella abortus strain 19 in two bulls. J.A.V.M.A. 145: 909-911.
- LANGFORD, E.V. and LEACH, R.H. 1973. Characterization of a mycoplasma isolated from infectious bovine keratoconjunctivitis: M. bovoculi sp. Nov. Can. J. Microb. 19: 1435-1443.
- LANGFORD, E.V. 1974. Isolation of Mycoplasma bovigenitalium from an aborted equine foetus. The Vet. Rec. 94: 528.
- LANGFORD, E.V. 1975. Mycoplasma species recovered from the reproductive tracts of western Canadian cows. Can. J. Comp. Med. 39: 133-138.
- LARSEN, A.B. and KOPECKY, K.E. 1970. Mycobacterium paratuberculosis in reproductive organs and semen of bulls. Am. J. Vet. Res. 31: 255-258.
- LARSON, L. 1980. Physical examination of the reproductive system of the bull. In current therapy in theriogenology (edited by D.A. Morrow) Philadelphia. USA, W.B. Saunders Co: 307-330.
- LITTLE, T.W.A.; RICHARDS, M.S.; HUSSMINI, S.N. and JONES, T.D. 1980. The significance of leptospiral antibodies in calving and aborting cattle in south west England. The Vet. Rec. 100: 221-224.
- LONG, S. 1969. Eversion of the preputial epithelium in bulls at artificial insemination centres. The Vet. Rec. 84 (20): 495-499.
- LONG, S.E. and RODRIGUEZ DUBRA, 1972. Ulcerative lesions on bulls. The Vet. Rec. 90: 15-16.
- MACMILLAN, A.P. and COCKREM. 1985. Reduction of non especific reactions to the Brucella abortus serum agglutination test by the addition of EDTA. Res. in Vet. Sci. 38: 288-291.
- MAJEWSKA, H.; BACZYNSKI, Z. and ZMUDZINSKI, J. 1980. Investigations of infectious

- pustular vulvovaginitis in bulls under natural conditions. Bull. Vet. Inst. Pullawy. 24 (1-4):52-56.
- MANN, T. 1974. Secretory function of the prostate, seminal vesicle and other male accessory organs of reproduction. J. Reprod. Fert. 37: 179-188.
- MARGNI, R.A. y colaboradores. 1977. Inmunología e Inmunoquímica. Fundamentos. 2da. Edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires.
- MATHIAS, L.A. and PINTO, A.A. 1982. Comparative study among complement fixation, serum agglutination and rose bengal plate tests in the serodiagnosis of bovine brucellosis. Int. J. Zoon. 9: 132-137.
- MAURYA, S.N.; BHALLA, R.C. and SONI, B.K. 1968. Studies on testicular calcification in buffalo-bulls. (Bos bubalis) Indian J. Vet. Sci. 38: 238-242.
- MAZZONELLI, J.M. 1986. Comunicación personal.
- MC CAUGHEY, W.J. and PURCELL, C.A. 1973. Brucellosis in bulls. The Vet. Rec. 92: 332-337.
- MC COOL, C.J. and HOOPER, P.T. 1977. Salvage of a valuable bull affected with unilateral Brucella abortus orchitis. Aust. Vet. J. 53: 246-247.
- MC DONALD, L.E. 1978. Reproducción y Endocrinología Veterinarias. 2º Edición. Editorial Interamericana, México: 179-234.
- MC ENTEE, K. 1958. Pathological conditions in old bulls with impaired fertility. J.A.V.M.A. 132: 328-331.
- MC ENTEE, K. 1959. Histopathology of sterility in the bull-testicular lesions. Proc. 16 th int. Vet. Congr. Madrid 2: 933-934.
- MC ENTEE, K. 1962. Seminal vesiculitis in the bull. Proc. 66 th. U.S. Livestock. Sanit. Ass. Washington: 160-167.
- MC KERCHER, D.G. 1969. Relationship of viruses to Reproductive Problems. J.A.V.M.A. 154 (10): 1184-1191.
- MC LEAN, J.M. 1959. Seminal vesiculitis and urinary calculi. Can. J. comp. Med. 23: 127-129.
- MC MANUS, J.F.A. y MOWRY, R.W. 1968. Técnica histológica. 3ra. Edición. Editorial Atika. S.A. Madrid.
- MELUCCI, L. 1987. Comunicación personal.
- MERCHANT, I.A. y PACKER, R.A. 1970. Bacteriología y Virología Veterinarias. 7º Edición. Editorial Acribia, Zaragoza.
- MICHNA, S.W. 1970. Leptospirosis. The Vet. Rec. 86: 484-496.

- MILLER, R.I. and CAMPBELL, R.S.F. 1978. Anatomy and pathology of the bovine ovary and oviduct. *The Vet. Bull.* 48 (9): 737-753.
- MITTAL, K.R. and TIZARD, I. 1981. Serological cross-reactions between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* serotype O9. *The Vet. Bull* 51 (7): 501-505.
- MONTEZ, I. 1984. Incidencia de la espermiostasis y calcificación testicular en toros sementales. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 10 (1): 69-73.
- MOSAHEB, H.F. and LADDS, P.W. 1973. The pathology of the external genitalis of bull in Northern Australia. *Aust. Vet. J.* 49: 512-516.
- MOULTON, J.E. 1978. *Tumours of Domestic Animals*. 2^o Edition. Univ. of California. Press Berkeley, Cal. E.U.A.: 309-325.
- MYERS, D.M. 1973. Procedure for drying leptospiral antibody on sand and sugar for serological studies in leptospirosis. *Appl. Microbiol.* 25: 427-430.
- MYERS, D.M. and JELAMBI, F. 1975. Isolation and identification of *Leptospira hardjo* from cattle in Argentina. *Trop. and geograph. Med.* 27: 63-70.
- MYERS, D.M. 1976. Effect of culture medium on the agglutinability of leptospirae by the microscopic-agglutination test. *Rev. Asoc. Arg. de Microbiología* 8: 14-20.
- NAGLIC, T. 1977. Studies of *Mycoplasma* in bovine genital organs. *Veterinarsky Archiv.* 47 (4): 217-228.
- NICOLETTI, F. 1976. Problems in the Diagnosis of Bovine Brucellosis. International Symposium on Brucellosis (II) Rabat 1975. *Dev. Biol. str.* 31:131.
- NICOLETTI, P.; MILWARD, F.W.; HOFFMANN, E. and ALTVATER, L. 1985. Efficacy of long acting oxitetracycline alone or combined with streptomycin in the treatment of bovine brucellosis. *J.A.V.M.A.* 187 (5): 493-495.
- NIGAM, S.K. 1975. Sertoli cell tumour in a bull. *Ind. Vet. J.* 52 (9) 686.
- O'BERRY, P.A.; BRYNER, J.M. and FRANK, J.H. 1966. Isolation of *Mycoplasma* from and aborted bovine foetus and vaginal mucus. *Am. J. Vet. Res.* 27 (118): 677-681.
- OLSON, C.; ROBL, M.G. and LARSON, L.L. 1968. Cutaneous and penile bovine fibropapillomatosis and its control. *J.A.V.M.A.* 153 (9): 1189-1194.
- ONOVIRAN, O.; TRUSCOTT, R.B.; FISH, N.A.; BAKER, C.A.V. and RUNHKE, H.L. 1975. The recovery of mycoplasmas from the genital tracts of bulls in artificial breeding units in Ontario. *Can. J. Comp. Med.* 39: 474-475.
- OSTROWSKI, J.E.B. 1963. Aspectos de la fertilidad en toros y carneros. *Rev. Med. Vet.* 44 (4): 233-239.

- OSTROWSKI, J.E.B. y SACKMANN MURIEL, C. 1970. Algunas enseñanzas de 8 años de ejercicio práctico de higiene de la reproducción en rodeos de razas para carne. Gac. Vet. 840: 292-303.
- PALLADINO, M.R. 1983. Pruebas serológicas en Brucelosis bovina. Revisión bibliográfica Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 3 (6): 540-556.
- PANANGALA, V.S.; WINTER, A.J.; WIJESINHA, A. and FOOTE, R.H. 1981. Decreased motility of bull spermatozoa caused by *Mycoplasma bovis* Am. J. Vet. Res. 42 (12): 2090-2093.
- PANANGALA, V.S.; HALL, C.E.; CAVENEY, N.T.; LEIN, D.K. and WINTER, A.J. 1982. *Mycoplasma bovis* in the upper genital tract of bulls: spontaneous and induced infections. Cornell Vet. 72 (3): 292-303.
- PARSONSON, J.M. 1970. *Mycoplasma bovis*: experimental induction of genital disease in bulls. Diss. Abstr. Int. 31 B: 3098-3099.
- PARSONSON, J.M.; HALL, C.E. and SETTERGREEN, J. 1971. A method for the collection of bovine seminal vesicle secretions for microbiologic examination. J.A.V.M.A. 158: 175-177.
- PARSONSON, J.M.; AL-AUBAIDI, J.M. and MC ENTEE, K. 1974. *Mycoplasma bovis*. Experimental induction of genital diseases in bulls. Cornell Vet. 64: 240-264.
- PEARSON, H. 1972. Surgery of the male genital tract in cattle. A review of 121 cases. The Vet. Rec. 91: 498-509.
- PERFUMO, C.J. 1976. Aislamiento y tipificación por epi-inmunofluorescencia de *Mycoplasma* en pulmones de cerdos con lesiones de neumonía enzoótica. Rev. Med. Vet. 57 (2): 77-82.
- PIETZ, D. and COWART, W.O. 1980. Use of epidemiologic data and serologic tests in bovine brucellosis. J.A.V.M.A. 177: 1221-1226.
- PLANT, J.W.; CLAXTON, P.D.; JAKOVljeVIC, D. and DE SARAM, W. 1976. *Brucella abortus* infection in the bull. Aust. Vet. J. 52 (1): 17-20.
- RAE, A.G. 1982. Isolation of mycoplasmas from bovine semen. The Vet. Rec. 111-462.
- RAMA RAO, P.; RAJYA, B.S.; PARIHAR, N.S.; MOHANTY, G.C. and MEHROTRA, M.L. 1975. Granular vulvovaginitis (GVV) in cattle-immunofluorescent studies. The Vet. Rec. 361.
- RANKIN, J.E.F. 1966. *Brucella abortus* in bulls: a study of twelve naturally-

- infected. cases. The Vet. Rec. 77: 132-135.
- RIET-CORREA, F.; FREITAS, A.; PUIGNAU, M.V.R. and PERDOMO, E. 1978. Ulcerative posthitis in bulls in Uruguay. Cornell. Vet. 69: 33-43.
- ROBERTS, S.J. 1958. A study of leptospirosis in a large artificial insemination. Stud. Cornell. Vet: 363-371.
- ROBERTS, S.J. 1979. Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción (Teriogenología). 1ra. Edición en Español. Editorial Hemisferic Sur. Buenos Aires: 803-955.
- ROBERTSON, L.; FARRELL, I.D. and HINCHLIFFE, P.M. 1977. The isolation of *Bruce*
llae from contaminated sources. A review. Br. Vet. J. 133: 193-200.
- ROGERS, R.J.; FLANAGAN, M. and HILL, M.W.M. 1972. A survey of infectious causes of reproductive failure in beef cattle in North-Eastern Australia. Aust. Vet. 48: 203-207.
- ROSENDAL, S.; HERNÓ, H. and WYAND, D.S. 1979. *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* as a cause of Polyarthrititis in goats. J.A.V.M.A. 175, (4): 378-380.
- ROSENFELD, L.E. and HILL, M.W.M. 1980. The isolation of *Mycoplasma alkalescens* from an aborted bovine foetus. Aust. Vet. J. 56: 350.
- SARAVI, M.A.; de MAZZONELLI, G.D. y MAZZONELLI, J.M. Análisis y Evaluación de la metodología de diagnóstico, prevención y control de la leptospirosis. Situación Nacional e Internacional. 1987. Memorias de la II Reunión Anual de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (A.A.V.D.): 7-14.
- SAUNDERS, P.J. and LADDS, P.W. 1978. Congenital and developmental anomalies of the genitalia of slaughtered bulls. Aust. Vet. J. 54: 10-13.
- SCHUDEL, A.A. 1981. Enfermedades virales que afectan la reproducción de los bovinos. Epidemiología y control. Curso sobre problemas sanitarios y no sanitarios que afectan la reproducción de los bovinos; un enfoque epidemiológico. F.C.V. U.N.C.P.B.A. Tandil.
- SENASA. Resolución Nº73. Marzo de 1982.
- SISSON, S y GROSSMAN, J.D. 1973. Anatomía de los animales domésticos. 4º Edición. Editorial Salvat. Barcelona: 561-581.
- SLEIGHT, S.D. and WILLIAMS, J.A. 1961. Transmission of bovine leptospirosis by coition and artificial insemination. A preliminary report. J.A.V.M.A. 138: 151-152.

- SLEICHT, S.D.; ATALLAH, D.A. and STEINBAUCH, D.J. 1964. Experimental *Leptospira pomona* infection in bulls. Am. J. Vet. Res. 25: 1663-1668.
- SONGER, J.G.; CHILELLI, C.J.; MARSHALL, M.M. NOON, T.H. and MEYER, R. 1983. Serologic survey for leptospirosis in Arizona beef cattle in 1981. Am. J. Vet. Res. 44 (9): 1783-1784.
- SPONENBERG, P. 1985. Reproductive pathology. Proceedings of S.I.D.A. Regional Follow-up Seminar on Veterinary Pathology. Nov. Dec. Argentina. National University of La Plata. Faculty of Veterinary Sciences. Pathology Institute. La Plata : 141-301.
- STALHEIM, O.H.V. and PROCTOR, S.J. 1976. Experimentally induced bovine abortion with *Mycoplasma agalactiae* Subsp. Bovis. Am. J. Vet. Res. 37 (8): 879-883.
- STALHEIM, O.H.V.; BARTHLETT, D.E.; CARBREY, E.H. KNUTSON, W.W.; LANGFORD, E.V. and SEIGFRIED, L. 1975. Recommended procedures for the microbiologic examination of semen. Proceedings of 21 st Annual Meeting American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. Buffalo, New York.
- STEMSHORN, B.W.; FORBES, L.E.; EAGLESOME, M.D. NIELSEN, K.H.; ROBERTSON, F.J. and SAMAGH, B.S. 1985. A comparison of standard serological tests for the Diagnosis of Bovine Brucellosis in Canada. Can. J. Comp. Med. 49: 391-394.
- STORL, J.; CARROLL, E.J.; BALL, L. and FAULKNER, L.C. 1968. Isolation of a psittacosis agent (chlamydia) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis syndrome. Am. J. Vet. Res. 29: 549-555.
- SULLIVAN, N.D. 1974. Leptospirosis in animals and man. Aust. Vet. J. 50: 216-223.
- SULZER, C. 1975. Leptospiral serotype. Distribution lists according to host and geographic area July 1966 to July 1973. FAO/WHO. U.S. Department of Health Education and Welfare Public Health service. Supplement to 1966 publication: 15.
- SUTHERLAND, S.S. 1980. Immunology of bovine brucellosis. The Vet. Bull, 50: 359-365.
- SZYFRES, S. 1982. El diagnóstico en el contexto de un programa de lucha contra la Brucelosis bovina. SENASA. Boletín Técnico N°2: 1-53.
- TAYLOR-ROBINSON, D.; THOMAS, M and DAWSON, P.L. 1969. The isolation of T mycoplasmas from the urogenital tract of bulls. J. Med. Microbiol. 2: 527-533.

Artículo 11: La facultad no se hace responsable de las opiniones vertidas en esta tesis.