

USO DE LA REV-1 EN EL CONTROL DE LA BRUCELOSIS OVINA EN UNA EMPRESA OVEJERA DEL PERÚ

Juan Rondón E.¹ y Raúl Rosadio A.²

Abstract

In 1996, after a 5 year hiatus, the use of the Rev-1 vaccine was reintroduced to control ovine brucellosis (*Brucella ovis*) in a large sheep company of the central Peruvian Andes, and by the year 2000, 86.3% of the rams (3,284 of 3,804) and 100% of the young males (n=1,811) were vaccinated. During the shearing campaign for year 2000, testicles of the entire male breeding population (n=5,615) were examined manually and 320 blood samples (214 rams and 106 yearlings) were taken for AGID testing to determine the presence of *Brucella ovis* antibodies. Epididymitis lesions were found in 89.4 x 10,000 of the rams and 38.6 x 10,000 of the yearlings, compared to 817 x 10,000 for rams and 214 x 10,000 for yearlings prior to reintroduction of Rev-1 vaccination. The progressive reduction in epididymitis was directly related to vaccination. The level of infection was found 1,186.4 x 10,000 in 1996 decreasing to 531.2 x 10,000 in 2000, but infection levels remained high in the vaccinated population (635.8 x 10,000). Clinical expression of the disease was 38.5 x 10,000 in unvaccinated males compared to 97.4 x 10,000 in vaccinated animals, but infection rates were considerably lower in vaccinated (635.8 x 10,000) than in unvaccinated (1,219 x 10,000) males. These results clearly demonstrate the efficaciousness of Rev-1 in controlling epididymitis in rams. Combined use of the Rev-1 vaccine with periodic clinical examinations, annual serological tests and the elimination of all reactors is recommended, but vaccination alone at a national level would help in controlling this highly prevalent disease in the Peruvian sheep population.

Key words: *Brucella ovis*, epididymitis, vaccination, Rev-1

Resumen

Se evaluó el efecto de la vacuna Rev-1 en el control de la brucelosis ovina causado por *Brucella ovis* en una empresa lanar de la sierra central del Perú. El uso de esta vacuna fue reintroducida en 1996, después de un lapso de 5 años. Al momento de la evaluación, la empresa mantenía el 86.3% de carneros vacunados (3,284/3,804) y el 100% de carnerillos vacunados (n=1,811). La evaluación consistió en exámenes clínicos testiculares a toda la población de reproductores machos (n=5,615) durante la campaña de esquila del año 2000. Paralelamente, se evaluó niveles de infección en 320 muestras sanguíneas (214 de carneros y 106 de carnerillos), detectando anticuerpos específicos para la *Brucella ovis* mediante la prueba de inmunodifusión en gel de agarosa (AGID). Los exámenes testiculares revelaron prevalencias de lesiones de epididimitis en tasas de 89.4 x 10 mil en la población adulta (carneros) y 38.6 x 10 mil en la población de jóvenes (carnerillos).

¹ Práctica privada

² Laboratorio de Microbiología y Parasitología, FMV-UNMSM. E-mail: rrosadio@terra.com.pe

Estas prevalencias son significativamente inferiores a las encontradas antes de la reintroducción de la vacuna, en la que se detectaron prevalencias de 817 x 10 mil en carneros y 241 x 10 mil en carnerillos, encontrándose una asociación directa entre el uso de la vacuna y la disminución progresiva de la prevalencia de epididimitis. Asimismo, la prevalencia de la infección global en la población de machos disminuyó significativamente desde 1,186.4 x 10 mil en 1996 a 531.2 x 10 mil en el año 2000; pero con niveles altos de infección en la población de carneros vacunados (635.8 x 10 mil). La población de carneros vacunados muestra una relativa alta prevalencia de la enfermedad clínica (97.4 x 10 mil) comparada con la población no vacunada (38.5 x 10 mil), pero con menor tasa de infección (635.8 x 10 mil) que los no vacunados (1,219.5 x 10 mil). Los resultados obtenidos demuestran no solamente las ventajas del uso de la vacuna Rev-1 en el control de la epididimitis de los carneros, sino la enorme posibilidad de extender su uso a nivel nacional para el control de esta enfermedad altamente prevalente en la ganadería ovina en el Perú.

Palabras clave: *Brucella ovis*, epididimitis, vacunación, Rev 1

INTRODUCCIÓN

La epididimitis ovina es una enfermedad altamente prevalente en las explotaciones ovejeras del país (Rosadio y Ameghino, 1999). Esta enfermedad es causada principalmente por la *Brucella ovis* y es causante de la infertilidad ovina (Jubb et al., 1993). La infección por esta bacteria se asienta básicamente en el aparato genital de los carneros ocasionando epididimitis y/u orquitis con disminución de la calidad del semen (Estein, 1999); y en las borregas preñadas produce una placentitis desencadenando en aborto al término de la preñez o disminuyendo la vitalidad de los neonatos (Robles, 1995).

La transmisión de la enfermedad se produce por vía oral al ingerir pasto y/o agua contaminada con la bacteria, por vía venérea y también por el olfateo o lamido de los órganos genitales de carneros o de borregas vacías por machos infectados (Blood y Radostits, 1992), afectando de manera mucho más dramática en rebaños con manejo deficiente (Ameghino, 1988).

El control de la enfermedad se apoya generalmente en la eliminación de los machos con diagnóstico clínico, bacteriológico y/o serológico positivo (Blasco, 1990). Sin embargo, la vacunación es el medio más económico y práctico para controlar la infección

por *Brucella ovis* en países con altas y medianas prevalencias (Robles, 1995) pues la erradicación por medio de pruebas serológicas y eliminación de los animales es económicamente impracticable (Marín et al., 1990; Blasco, 1990).

Se han ensayado varias vacunas para prevenir la infección por *Brucella ovis*, principalmente en animales machos (West y Bruere, 1979; Afzal y Kimberling, 1986; Pinochet et al., 1987; Blasco et al., 1987; Winter et al., 1996). En el país, el uso de la vacuna Rev-1 (*Brucella melitensis* viva atenuada) fue ensayada en condiciones de laboratorio hace casi 30 años (Rosadio, 1972), y progresivamente fue adoptada como método de control en la SAIS Túpac Amaru.

El uso de la Rev-1 tiene numerosas ventajas, entre las cuales se puede indicar la escasa virulencia y patogenicidad para los animales (Comité FAO/OMS, 1986); confiere protección inmunológica prolongada contra la infección por *Brucella ovis* (Tonder et al., 1994). La Rev-1 no ha demostrado reversión a virulenta, pero debe manejarse bajo vigilancia estricta de un veterinario, pues la cepa es infecciosa para las personas (OPS, 1999). La ventaja fundamental es que la Rev-1 permite diferenciar animales vacunados de infectados a partir de la 9ª semana postvacunación (Rosadio, 1972).

La vacuna REV-1 fue utilizada en forma regular por la SAIS Túpac Amaru desde 1975 hasta 1990 en que la prevalencia de la brucelosis había disminuido significativamente. A partir de esa fecha no se hizo una evaluación sistemática sobre el estado infeccioso de la población ovina. Sin embargo, en 1994 y 1995 se registraron rebrotes de epididimitis (29.8 y 34.6 x 10,000, respectivamente) llegando a 817 y 241 x 10,000 en carneros y carnerillos en 1996, año en que se reintrodujo la vacunación con REV-1. La vacuna se administró solamente a los carnerillos de 4 a 8 meses de edad, por lo que animales nacidos en el período 1992-1994 no fueron vacunados.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de la vacuna Rev-1 a través del conocimiento de las prevalencias de la brucelosis ovina en la SAIS Túpac Amaru y demostrar que se puede disminuir la epididimitis ovina y las infecciones por *Brucella ovis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio y animales

El estudio se llevó a cabo en las unidades de producción de la SAIS Túpac Amaru ubicadas en las provincias de Jauja, Junín, Tarma y Yauli (3,500 - 4,700 msnm), en la temporada de clasificación y esquila (marzo del año 2000).

Los animales de estudio pertenecían a la población de carneros del plantel de reproductores de las unidades de Atocsaico, Casaracra, Cochabamba, Consac, Pucará y Quiulla; y a la población de carnerillos de las unidades de Consac, Pachacayo y Pucará. Todos los animales evaluados fueron de la raza Junín.

La SAIS Túpac Amaru contaba con 3,804 carneros (3,284 vacunados y 520 novacunados) y 1,811 carnerillos vacunados en el momento de la evaluación del presente estudio.

Manejo de los animales en estudio y del programa de vacunación con Rev-1

Los carneros se encontraban distribuidos en puntas de 500 a 1,000 animales, los carnerillos y las borregas en puntas de 1,000, y las borreguillas en puntas de 1,200. Anualmente en Marzo se realiza la clasificación y reclasificación de los animales. Los machos pasan por un examen clínico general, chequeo genital y descarte si tuvieran algún problema o presentaran lesiones testiculares incluyendo epididimitis. Finalmente se realiza la esquila de todas las puntas.

La vacunación con Rev-1 se realiza en los meses de mayo o junio. Los carnerillos son arreados y cercados en grupos de 500 a 600 en los lugares más accesibles del campo para facilitar el manejo de los animales. La vacuna se presenta en forma liofilizada manteniéndose a temperatura de refrigeración (2-4°C). Se reconstituye con agua destilada estéril y se usa dentro de las 24 horas. La administración fue por vía subcutánea en la zona lateral del tórax o ventral de la pierna, en una dosis de 2×10^9 microorganismos en 2 ml de vacuna reconstituida.

Revisión de datos

La información sobre los animales descartados por epididimitis en los períodos de esquila de los años 1997-1999 fueron obtenidos a través de la revisión de registros y del balance general del año 1999 de la empresa. Cabe mencionar que la empresa dejó de vacunar desde el año 1991 hasta 1995, reintroduciendo el uso de la Rev-1 en 1996. Consecuentemente, la SAIS cuenta con carneros no vacunados que nacieron en el período 1992-1994.

Evaluación clínica

Se realizaron exámenes clínicos a toda la población de carneros vacunados y no vacunados (3,804), y a la población de carnerillos (1,811). Se palparon los testículos

para detectar alteraciones uni o bilaterales de epididimitis, y los animales afectados fueron destinados al camal.

Evaluación serológica

Se realizó en muestras de sangre de un grupo de animales sin afecciones clínicas del total de la población de carneros y carnerillos. Para el cálculo del número de muestras se aplicó la fórmula de tamaño muestral con la prevalencia referencial de 1996. Se trabajó con un total de 106 carnerillos y 214 carneros, y se estratificó el número de animales a muestrear de acuerdo a la población de cada unidad de producción.

Las muestras de sangre se obtuvieron con tubos al vacío de la vena cefálica. El diagnóstico serológico se realizó mediante la prueba de inmunodifusión en gel de agarosa (AGID) de acuerdo a lo descrito por Diaz y Bosseray (1973) y Alton et al. (1988). Se usó el antígeno rugoso específico de *Brucella ovis*, preparado mediante el método de extracción salina caliente de acuerdo a lo recomendado por la OIE (1996).

Análisis estadístico

Se calculó la prevalencia clínica de epididimitis y la prevalencia serológica de infecciones a *Brucella ovis* y se estandarizó las prevalencias a tasas con una población de 10 mil animales.

Se comparó las tasas de prevalencia de infecciones a *Brucella ovis* halladas en el presente estudio (año 2000) con las tasas del año 1996 (Rosadio, 1996). Para la comparación se aplicó la fórmula del intervalo de confianza de la diferencia de proporciones.

Se determinó la evolución de la epididimitis ovina desde el año 1994 y la relación de asociación existente entre el uso de la vacuna Rev-1 desde 1996 y la disminución de las tasas de prevalencia de epididimitis en carneros. Para la relación de asociación se aplicó la prueba del coeficiente de correla-

ción por rangos de Spearman (sin valores iguales).

RESULTADOS

Las evaluaciones clínicas y serológicas realizadas en el 2000 mostraron una mayor tasa de prevalencia en carneros que en carnerillos (Cuadro 1). Por otro lado, se encontró una menor prevalencia de epididimitis clínica pero una mayor prevalencia de carneros serológicamente positivos a *Brucella ovis* (infectados) en animales no vacunados con relación a los carneros vacunados (Cuadro 2).

Las tasas de prevalencia de epididimitis e infecciones a *Brucella ovis* encontradas en el año 2000 fueron significativamente menores a las tasas del año 1996 (Cuadro 3).

La re-introducción de la vacuna REV-1 a partir de 1996 redujo considerablemente la presentación clínica de la enfermedad llegando a obtenerse una tasa de 89.4 x 10,000. Se determinó una correlación inversamente proporcional entre el uso de la vacuna y las tasas de prevalencia de epididimitis en la población de carneros bajo estudio (Fig.1).

DISCUSIÓN

En el Perú, la Rev-1 se viene usando en forma limitada en el control de la brucelosis ovina desde 1979. Sobre su uso existen ciertas informaciones confirmando las bondades en el control de la epididimitis; sin embargo, la vacuna nunca fue evaluada en forma consistente. El uso de la Rev-1 en la SAIS Túpac Amaru logró disminuir progresivamente la enfermedad en la población de reproductores machos hasta niveles imperceptibles, lo que determinó dejar el sistema de vacunación a partir de 1991. Sin embargo, su suspensión motivó que la enfermedad rebrotara con características epizoóticas desde 1994 y se recomendara su reintroducción en el manejo sanitario de la empresa en 1996 (Rosadio, 1996).

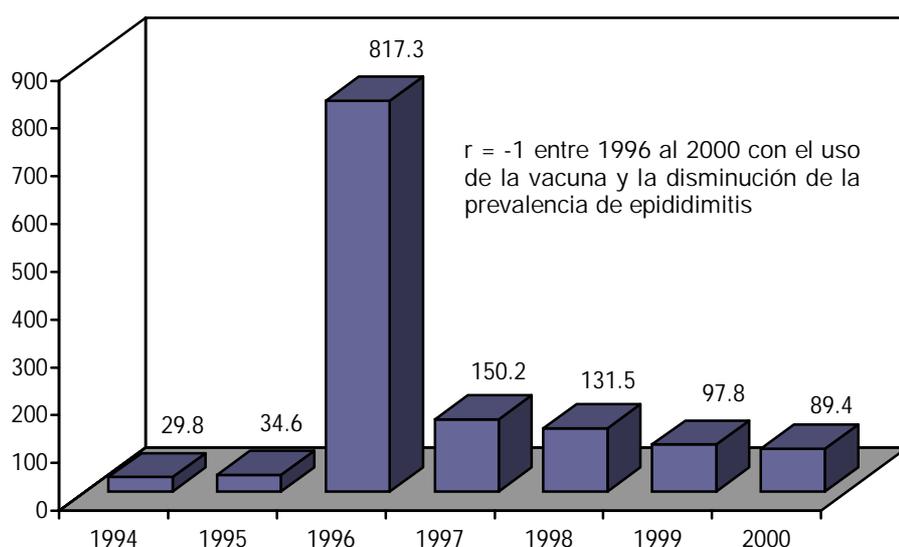


Figura 1. Tasas de prevalencia (x 10,000 animales) de epididimitis en la población de carneros de la SAIS Túpac Amaru, en el periodo 1994-2000

Cuadro 1. Tasas de prevalencia (x 10,000 animales) de epididimitis e infecciones a Brucella Ovis (AGID positivos) en una población de machos

Enfermedad	Carneros		Carnerillos	
	Pos/Tot	Tasa	Pos/Tot	Tasa
Epididimitis	34 / 3,804	89.4	7 / 1,811	38.6
Infección a B. ovis	16 / 214	747.7	1 / 106	94.3

Pos/Tot: animales positivos a epididimitis y/o infecciones a Brucella ovis/ total de animales evaluados

Cuadro 2. Tasas de prevalencia (x 10,000 animales) de epididimitis e infecciones a Brucella ovis (AGID positivos) en la población de machos no vacunados y vacunados con Rev-1 por rango de edad

Enfermedad	Carneros				Carnerillos Vacunados ³	
	No vacunados ¹		Vacunados ²		Pos/Tot	Tasa
	Pos/Tot	Tasa	Pos/Tot	Tasa		
Epididimitis	2 / 520	38.5	32 / 3,284	97.4	7 / 1,811	38.6
Infección a B. ovis	5 / 41	1219.5	11 / 173	635.8	1 / 106	94.3

Pos/Tot: positivos a epididimitis y/o infecciones a Brucella ovis/total de animales evaluados

1 Nacidos en los años 1992, 1993 y 1994

2 Nacidos los años 1995, 1996 y 1997

3 Nacidos el año 1998

Cuadro 3. Tasas de prevalencia (x 10,000 animales) de epididimitis e infecciones a *Brucella ovis* (AGID positivos) en la población de machos en los años 1,996 y 2,000

	Clase	1,996	2,000
Epididimitis	Carneros	817.4	89.4
	Carnerillos	241.4	38.6
Infecciones a <i>B. ovis</i>	Carneros	1,290.3	747.7
	Carnerillos	721.6	94.3

Intervalo de confianza de la diferencia de proporciones (Índices de prevalencias de infecciones a *Brucella ovis* del año 1996 frente al año 2000) = ICΔP.

ICΔP Carneros : (0.007 - 0.101)

ICΔP Carnerillos : (0.008 - 0.117)

Las evaluaciones realizadas en el presente estudio demuestran que la prevalencia de manifestaciones clínicas de la enfermedad han disminuido significativamente frente a lo encontrado en pleno rebrote de la enfermedad en 1996. Esta aparente reducción se contrasta con la presencia de una alta tasa de infecciones a *Brucella ovis* en la población muestreada (Cuadro 3). Esta dualidad en el control de la enfermedad debe ser tomada en cuenta en el proceso de evaluación de la Rev-1 en el campo.

El efecto positivo de la Rev-1 en el control de la enfermedad se traduce por la disminución progresiva de la enfermedad clínica en la población de machos desde el año de la reintroducción de la vacuna (Fig. 1), en la reducida prevalencia de la infección en poblaciones jóvenes (carnerillos) (Cuadro 1), y sobre todo cuando se comparan las tasas de prevalencia de la infección en la población de carneros vacunados con Rev-1 con la población de carneros no vacunados todavía existente en la empresa al momento del muestreo. Sin embargo, la mayor prevalencia de la enfermedad clínica en la población de carneros vacunados frente a los no vacunados (Cuadro 2), se explicaría por la eliminación de animales con epididimitis, mayoritariamente carneros de mayor edad (no vacunados) en periodos de manejo anteriores al programa de esquila de la SAIS Túpac Amaru.

La aparente alta tasa de infección en la población de carneros puede interpretarse de varias formas. Por un lado, puede atribuirse a que la vacuna no protege el 100% de los animales vacunados y por otro lado, que la vacuna inmunizaría contra la enfermedad (lesiones clínicas) sin impedir la instalación y crecimiento bacterial (infección); sin que esto limite la coexistencia de ambos factores. Lo que sí queda claro es que la Rev-1 es una buena herramienta biológica para el control de la brucelosis ovina producida por *Brucella ovis*. Los resultados de esta evaluación preliminar comprueba las ventajas que ofrece la vacuna para el control de la enfermedad tal como es mencionada por otros autores (Van Drimmelen, 1960; Alton y Elberg, 1967; Blasco et al., 1987; Blasco, 1990; Tonder et al., 1994; Robles, 1995; Estein, 1999).

La mayor prevalencia de la enfermedad en animales vacunados de mayor edad (Cuadro 2) evidencia que estos animales están siendo desafiados constantemente por el agente patógeno excretado por los animales infectados no vacunados, pudiendo vencer la protección inmunológica en un reducido porcentaje de la población. En esta situación los animales no vacunados seropositivos a *Brucella ovis* podrían estar actuando como verdaderos diseminadores de la infección al resto de la población (Kott et al., 1988). Por otro lado, el alto porcentaje de animales va-

cunados que resisten a la presentación de lesiones clínicas y a la infección por *Brucella ovis* tiende a fortalecer las bondades de la Rev-1 y quizás sea producto de que existan ciertos mecanismos por determinarse que les permitan estar libres de la enfermedad a pesar del constante desafío natural que no logren controlar el crecimiento bacterial en el hospedero traducido aún por la alta prevalencia de la infección (AGID positivos).

La baja prevalencia clínica y serológica en carnerillos (Cuadro 1) se debe al buen criterio de manejo que sigue la empresa, ya que mantiene separada su población de machos jóvenes (carnerillos) de la población adulta (carneros) hasta su primer servicio (Corbel et al., 1991; Rosadio y Ameghino, 1999). En este contexto se debe vacunar a todos los carnerillos (entre 3 a 8 meses) y mantenerlos separados de los carneros, no solo para protegerlos de la enfermedad, sino también para permitir que un gran porcentaje de estos animales lleguen a su primer servicio completamente sanos y a la vez se disminuya la probabilidad de desafiar a estos animales con las excreciones bacteriales de animales infectados y se quiebre la inmunidad conferida por la vacuna.

Los animales seropositivos indican una verdadera infección a *Brucella ovis*. La prueba de inmunodifusión en gel de agarosa (AGID), utilizó antígeno rugoso específico de *Brucella ovis*, exclusivo para la detección de anticuerpos contra *Brucella ovis* en muestras sanguíneas (Blasco, 1990, Núñez et al., 1998; Mendez et al., 1999). Por otro lado, los carnerillos muestreados tenían por lo menos 8-10 meses de vacunados al momento de muestreo, tiempo por demás suficiente para desechar la posibilidad de reacciones cruzadas a *Brucella ovis* observadas en los animales vacunados hasta 10 semanas postvacunación (Rosadio, 1972).

La Rev-1 ha logrado disminuir significativamente la epididimitis ovina y las infecciones a *Brucella ovis* en la SAIS Túpac Amaru, pero los niveles de infección son to-

davía altos, implicando que la fuente de infección se encuentra latente, por lo que se recomienda continuar el uso de la Rev-1 hasta alcanzar una cobertura de vacunación que alcance a toda la población de machos reproductores de la empresa. Cumplido con este requisito se deberá realizar una detallada evaluación sobre el estado de la enfermedad y de la infección, para contemplar la posibilidad de intentar un programa de erradicación de la enfermedad en la empresa.

Los resultados obtenidos en este estudio no solo demuestran las ventajas del uso de la Rev-1 en el control de la epididimitis de los carneros en nuestro país (Rosadio, 1972; Ameghino 1988). También evidencian la gran posibilidad de extender su uso a nivel nacional para el control de esta enfermedad de gran prevalencia en la ganadería ovina del Perú. La aplicación sin embargo debe ser complementada con medidas de manejo tales como exámenes clínicos periódicos a toda la población de machos y la eliminación de todo animal enfermo; e intentar realizar por lo menos una prueba serológica anual, procediendo igualmente a eliminar todo animal seropositivo.

Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento al personal de la SAIS Túpac Amaru y en forma especial a los Drs. Glicerio Montes, Santiago Baudilio y Máximo Gamarra; al personal del INS-CNPB, y en forma especial a las Dras. Ana Herrera, Silvia Herrera y Flor Fuentes; a la Dra. Ibelice Pérez (SENASA) y a toda persona que colaboró en la realización del presente estudio.

LITERATURA CITADA

1. Afzal. M.; C.V. Kimberling. 1986. How to control *Brucella ovis*-induced epididymitis in rams. *Vet. Med.* 81: 364-370.

2. Alton, G.G.; S.S. Elberg. 1967. Rev-1 *Brucella melitensis* vaccine. *Vet. Bull.* 37: 793-800.
3. Alton, G.G.; L.M. Jones; R.D. Angus; J.M. Verger. 1988. Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut. National de la Recherche Agronomique. INRA. París. p 151-167.
4. Ameghino, E. 1988. Avances sobre investigación en salud animal - ovinos. Brucelosis ovina (Epididimitis de los carneros). *Bol. Div.* 21: 41-48.
5. Blasco, J.M.; C.M. Marín; M. Barberán; I. Moriyón; R. Díaz. 1987. Immunization with *Brucella melitensis* Rev-1 against *Brucella ovis* infection of rams. *Vet. Microbiol.* 14: 381-392.
6. Blasco, J.M. 1990. Animal Brucellosis. *Brucella ovis*. 1ª ed., p 351-378. K. Nielsen y J.R. Duncan (eds). CRC. Press, Boca Ratón, FL.
7. Blood, D.C.; O.M. Radostits. 1992. *Medicina Veterinaria*. 7ª ed., p 743-745. Edit. Interamericana, McGraw-Hill, USA.
8. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. 1986. Vacuna de Cepa Rev-1 de *Brucella melitensis*. OMS. Serie de Inf. Técn. N° 740. Ginebra. 6º Informe. p 8-51,84-87,108-111,122-142. Gráficas Reunidas. 1700. España 87/7226. OPS.
9. Corbel, M.J.; J.A. Laing; W.J. Morgan; W.C. Warner. 1991. Fertilidad e infertilidad en la práctica veterinaria. Brucelosis. 4ª ed. p 230-231. Edit. Interamericana. London. UK.
10. Díaz, R.; N. Bosseray. 1973. Identification de un composé antigénique spécifique de la phase rugueuse (R) de *brucella*. *Ann. Rech. Véter.* 4: 238-242.
11. Estein, S.M. 1999. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. *Arch. Med.Vet. Chile. Valdivia* 31: 5-13.
12. Jubb, K.; P.C. Kennedy; N. Palmer. 1993. *Pathology of domestic animal*. 3ª ed. p 396-400. Edit. Agropecuaria Hemisferio Sur. Bs. As. Argentina.
13. Kott, R.W.; G. Halver; B. Firchammer; V.M. Thomas. 1988. Relationship between *Brucella ovis* semen culture and various semen and serology parameters. *Theriogenology* 29: 961- 970.
14. Marín, C.M.; M. Barberán; M. Jimenez de Baguez; J. Blasco. 1990. Comparison of subcutaneous and conjuntival routes of Rev-1 vaccination for the prophylaxis of *Brucella ovis* infection in rams. *Res. Vet. Sci.* 48: 209-215.
15. Méndez, G.; E. Díaz; J. Morales; F. Aguilar; F. Suárez. 1999. Epididimitis ovina. Estudios bacteriológico y serológico. *Vet. Méx.* 30: 329-336.
16. Núñez, E.; A. Díaz; V. Tenorio; L. Hernández; C. Marín; F. Suárez. 1998. Stability of antigen and agarose used in a double inmunodifusion serologic test for *Brucella ovis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10: 113-115.
17. Office Internacional de Epizooties (OIE). 1996. Manual of standard for diagnostic. Test and vaccines. 3ª ed. p 8-13. Edit. Interamericana - McGraw-Hill. Paris. Francia.
18. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 1999. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa OPS/OMS. Brucelosis. Consulta de expertos de la OPS/OMS sobre vacunas y estrategias de vacunación. 4º Panel. p 47-50, 60-61.
19. Pinochet, L.; A. Pinto; M. Sánchez; M. Bertolino. 1987. Brucelosis ovina. Vacunación con cepa 45/20 adyudante. *Avances en Cs. Vet. Valdivia. Chile* 2: 47-50.
20. Robles, C.A. 1995. Epididymitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. *Rev. Med. Vet.* 79: 67-71.
21. Rosadio, R. 1972. Estudio sobre la posible eliminación de la cepa vacunal Rev-1 de *Brucella melitensis* en ovinos vacunados contra epididimitis. Tesis Bach., Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 35 p.
22. Rosadio, R. 1996. Evaluación sobre la brucelosis ovina en los reproductores de la SAIS Túpac Amaru. Reporte interno. Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima. 8 p.

23. Rosadio, R; E. Ameghino. 1999. Enfermedades de los ovinos en el Perú. FMV-UNMSM. Lima. Pub. Técn. N°40: 60-61. Edit. San Marcos.
24. Tonder, E.M.; S. Herr; G.C. Bishop; P.P. Bosman. 1994. Infections diseases of livestock. *Brucella ovis* infection, with special reference to Suotherm Africa. J.A.W. Oxford (ed). University Press. USA. p 1067-1072.
25. Van Drimelen, G.C. 1960. Control of brucellosis in sheep and goats by means of vaccination. J. South Afr. Vet. Med. Assoc. 31: 129-138.
26. West, D.M.; A.N. Bruere. 1979. Accreditation for freedom from ovine brucellosis. N.Z.Vet.J. 27: 263-265.
27. Winter, A.J.; G. Schurrig; S. Boyle; N. Sriranganathan; J. Bevins; F. Enright; P. Elzer; J. Kopec. 1996. Protection of BALB/C mice against homologous and heterologous species of *Brucella* by rough strain vaccines derived from *Brucella melitensis* and *Brucella suis* biovar 4. Am. J. Vet. Res. 63: 30-31.