

## CINÉTICA DE LA INFECCIÓN POR *Brucella ovis* EN CAR- NEROS DURANTE UNA ÉPOCA DE EMPADRE

Rocío Quispe Ch.<sup>1</sup>, Hermelinda Rivera G.<sup>2</sup> y Raúl Rosadio A.<sup>3</sup>

### ABSTRACT

The evolution of *Brucella ovis* infection was documented clinically and serologically in a flock of 250 field reared rams from a large sheep production company in the central sierra of Peru. Although no clinical evidence of Brucellosis (epididymitis) was detected at the start of a 2-month breeding campaign, 58.7% of the animals were positive to the indirect ELISA test. At the end of the breeding season, 74.4% tested positive using indirect ELISA and 28.4% of the animals had to be eliminated due to testicular lesions. These results demonstrate rapid evolution of the bacterial infection from seropositive to clinical manifestation, indicating that reliance on clinical observation alone is insufficient to control the infection under field conditions. Serological testing is necessary in order to identify and eliminate all positive reactors. If this procedure is not followed, alternative control alternatives such as vaccines should be employed to control the disease.

Key words: Ovine brucellosis, *Brucella ovis*, epididymitis, mating, ELISA

### RESUMEN

Con la finalidad de estudiar la evolución de la infección a *Brucella ovis* en condiciones de campo, una punta de carneros de plantel (n=250) de una empresa ovejera de la sierra central del país fueron examinados clínica y serológicamente durante el período de empadre (2 meses). Al inicio del empadre ningún animal tenía evidencias clínicas de la enfermedad (epididimitis), pero el 58.7% era positivo a la prueba de ELISA indirecta. Al término del empadre el 28.4% de los reproductores tuvo que ser eliminado por lesiones testiculares evidentes, en tanto que los exámenes de ELISA demostraron que 74.4% de los carneros eran positivos a la prueba. El estudio evidenció una rápida evolución de un estado de animal seropositivo a animal clínicamente enfermo. En estas condiciones de campo, los exámenes clínicos no son suficientes medidas para controlar la infección, por lo que es fundamental realizar exámenes serológicos y eliminar a todo reactor positivo. Si no se practica estas recomendaciones, es mejor buscar otras alternativas de control incluyendo el uso de vacunas.

Palabras clave: Brucelosis ovina, *Brucella ovis*, epididimitis, empadre, ELISA

<sup>1</sup> Práctica privada

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología y Parasitología, FMV-UNMSM

<sup>3</sup> Laboratorio de Microbiología y Parasitología, FMV-UNMSM. E-mail: rrosadio@terra.com.pe

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis ovina, causada por la *Brucella ovis*, es prevalente en todo el territorio peruano y causa problemas reproductivos asociados con infertilidad del macho, abortos, y pérdidas embrionarias y de corderos al nacimiento (Moro, 1965; Ameghino y Véliz, 1970).

Los carneros tienen un efecto importante en la reproducción, representan aproximadamente el 80 % del cambio genético que ocurre en un rebaño, por lo que cualquier falla o ineficiencia en el proceso reproductivo puede resultar en una drástica disminución de la eficiencia reproductiva de las hembras servidas (INIAA, 1990).

La infección producida por la *B. ovis* en la sierra central del país ha sido ampliamente estudiada. La prevalencia de la enfermedad llega hasta 30% (Alba, 1996) en empresas asociativas, y es ligeramente inferior en animales criollos criados por pequeños propietarios (Véliz y Pizarro, 1997). La infección en el macho produce principalmente lesiones epididimales y ocasionalmente orquitis, afectando la calidad del semen y consecuentemente determina un bajo índice de fertilidad y natalidad. La *B. ovis* es responsable además de la constante eliminación de animales reproductores, muchos de ellos de alto valor genético (Ameghino y Véliz, 1970; Pinochet et al., 1987).

La infección bacteriana se transmite a través de secreciones y/o excreciones corporales que contaminan pastos y fuentes de agua, pero fundamentalmente durante la monta a través de semen infectado. La transmisión venérea también ocurre entre machos mediante sodomía.

Muy poca información existe acerca del comportamiento de la infección en situaciones de campo. El desarrollo aparentemente rápido de lesiones clínicas, en un lapso de tiempo relativamente corto, sugiere que la gran

actividad sexual durante la campaña promovería reacciones inflamatorias en tejido testicular que aceleraría retenciones de espermatozoides y consecuentemente la formación de espermatocitos y/o brucelomas que se detectan en las palpaciones testiculares (Kimberling et al, 1986; Ameghino, 1988).

Por otro lado durante el empadre, la borrega en celo tiende a aceptar varios machos (Moro, 1965; Walker et al., 1985). Durante esta práctica muchos animales libres de la infección se infectan durante la monta. Se presume que la bacteria es altamente transmisible durante la campaña de empadre (Rosadio et al., 1977).

Experimentalmente, la bacteria tiene un período de incubación de aproximadamente 4-6 semanas, tiempo en que un animal infectado comienza a eliminar la bacteria en el semen. Las lesiones, sin embargo, se manifiestan a partir de la 9ª semana postinfección.

El presente trabajo fue diseñado para investigar la habilidad de transmisión de la *Brucella ovis* en la población de carneros utilizados en la campaña de empadre de una empresa ovejera, respetando todos los aspectos que involucra esta faena. Los parámetros observados en la población de carneros fueron la evolución de lesiones clínicas producto de la infección bacteriana y/o evidencias de infección mediante pruebas serológicas antes y después del empadre.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Lugar de estudio

El trabajo fue realizado durante una campaña de empadre en una empresa ovejera a 4,100 msnm. Las pruebas serológicas fueron realizadas en los laboratorios de Bacteriología y Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

## Animales

Se utilizó una población de carneros, de raza Merino y Corriedale con edades entre los 2-3 años que pertenecían a la punta de "plantel" compuesto por 250 animales. De estos, sólo 33 animales se encontraban identificados con aretes metálicos.

El tamaño de la muestra (n=125) fue calculado para estimar una diferencia de proporciones (Snedecor y Cochran, 1986) utilizando la prevalencia obtenida en la misma empresa ovejera (23.1%) en estudios anteriores (Alba, 1996). En la empresa se realizan palpaciones testiculares dos veces al año, tanto en la esquila como al inicio del empadre.

El estudio se ejecutó durante la campaña de empadre (mayo y junio). Todos los animales fueron sometidos a exámenes testiculares y extracción de sangre al inicio y al finalizar la campaña de empadre. En el grupo de animales con arete metálico (n=33), se realizaron exámenes clínicos y recolectaron muestras de sangre adicionales a mitad del periodo de empadre.

## Examen Clínico

La palpación de los testículos se realizó con el animal en posición de sentado, palpando a lo largo de los testículos, y prestando atención a las diferentes partes del epidídimo. Los animales con lesiones testiculares en el examen pre empadre fueron eliminados. La ejecución del trabajo no interfirió con el sistema de manejo propio de la empresa. Se recomendó la eliminación de los animales que resultaron con lesiones testiculares durante y al final del empadre.

## Colección de muestras

Las muestras de sangre fueron tomadas antes y al final del empadre al total de la población en estudio (n=250). Sin embargo, solamente se trabajó en 172 animales incluyendo a los 33 identificados con arete (el restante de los animales [138] fueron escogi-

dos al azar). Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción de la yugular, con tubos al vacío.

## Prueba serológica

172 animales fueron examinados para determinar la presencia de anticuerpos específicos. Las evaluaciones serológicas se realizaron 2 veces (antes y después del empadre) y a los 33 animales con identificación se les examinó 3 veces, incluyendo a los 30 días de iniciado el empadre. Los animales seroreactivos no fueron eliminados en ningún momento del estudio.

La prueba utilizada fue el ELISA indirecta previamente estandarizada en la FMV-UNMSM (OIE, 1996; Ruelas, 1999). El antígeno utilizado en el ELISA indirecta fue titulado antes de la realización de la prueba. Los sueros controles fueron igualmente titulados.

Para la interpretación de los resultados se utilizaron los datos de absorbancia de los sueros que proporciona el lector de ELISA. Se tuvo en cuenta el punto de corte (23.89 PP), los valores de los sueros control fuertemente positivo (C++) y de los controles blanco (B). Se aplicaron estos valores para hallar el valor límite mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Valor límite} = (XC_{++} - XB) \cdot 23.89/100$$

donde:

$XC_{++}$  = Promedio de valores de absorbancia de controles fuertemente positivos.

$XB$  = Promedio de valores de absorbancia de controles blanco.

En base a esta fórmula se obtiene que absorbancias superiores o inferiores al valor límite se consideran positivos o negativos, respectivamente. Los sueros con valor igual a éste, fueron analizados por segunda vez.

## RESULTADOS

Los resultados de los exámenes clínicos y serológicos se observan en el Cuadro 1. El 58.7% de los animales eran seroreactores a *B. ovis* al inicio de la época de monta pero sin mostrar sintomatología clínica a nivel testicular. El 13.2% de los machos desarrollaron una epididimitis clínica a mitad del empadre, la cual llegó a abarcar al 28.4% de la población al término del empadre. La tasa de reactivos llegó al 74.4% al finalizar el empadre.

La evolución clínica y serológica de la brucelosis pudo ser monitoreada con mayor precisión en el grupo de 33 animales aretados. Estos animales iniciaron el empadre sin signos clínicos de epididimitis aunque 26 de ellos eran seroreactores. A mitad del empadre, 16 carneros presentaron lesiones clínicas, siendo 11 de ellos del grupo de seroreactores iniciales. Al final del empadre se tuvo 4 casos clínicos adicionales, siendo 1 de ellos del grupo de seroreactores iniciales.

Cuadro 1. Frecuencia de animales con epididimitis clínica y reactivos a la prueba de ELISA, durante un período de empadre de 2 meses.

Examen	Día	Animales afectados	
		Nº	%
Clínico	0	0	0
	30	33	13.2
	60	71	28.4
Serológico	0	101	58.7
	60	128	74.4

## DISCUSIÓN

La epididimitis causada por *Brucella ovis* es una de las causas más importantes de eliminación de carneros reproductores en

el país y el mundo. En el Perú, la enfermedad está ampliamente difundida, con prevalencias promedio de 30 y 27% para casos clínicos y seroreactivos, respectivamente (Alba, 1996). La mayoría de los estudios sobre la enfermedad en el país se refiere a la prevalencia clínica o serológica, pero se carece de información sobre el comportamiento de la enfermedad en establecimientos que practican ciertas medidas de control. Muchos de los establecimientos ovejeros del país han adoptado recomendaciones mínimas para el control y la mayoría apuntan a eliminar animales clínicamente enfermos en determinadas épocas del año. En este esquema, muy pocos realizan exámenes serológicos paralelos para eliminar animales infectados que no muestren alteraciones clínicas. En algunas empresas se presta muy poca atención al rol que puedan jugar los animales seroreactivos en la epidemiología de la enfermedad.

El periodo de empadre ofrece una excelente oportunidad para estudiar el comportamiento de la enfermedad. En el presente estudio, la evolución de la enfermedad fue rápida, si se consideran que en solo dos meses de monta se llegó a detectar 71 casos clínicos nuevos (25.4% de los reproductores), lo que significó que la empresa tuviera que deshacerse de esos animales de alto valor genético.

La rápida evolución de la enfermedad refuerza las recomendaciones sobre la necesidad de realizar evaluaciones testiculares periódicas en los carneros reproductores en busca de lesiones epididimales y eliminar a todo animal positivo a la palpación (Zaldívar, 1974; Martin y Aitken, 2000). Además queda en evidencia que los exámenes clínicos no son suficientes para el adecuado control de la infección, pues en el estudio se encontró gran cantidad de seroreactivos sin lesiones clínicas que en poco tiempo desarrollarían lesiones evidentes. La rápida evolución indica que debería practicarse exámenes durante el empadre para identificar los animales enfermos y retirarlos del empadre.

El comportamiento de la infección en el campo indica que se deberá detectar animales serológicamente positivos para proceder a su eliminación. Esta recomendación difícilmente será aceptada, debido a que muchas veces el ganadero es renuente a eliminar animales que no muestren lesiones testiculares. Los resultados del trabajo indican que mientras se deje animales infectados, estos animales sin lugar a dudas servirán como fuente de diseminación bacteriana para otros.

En este estudio, por razones de manejo, no se pudo seguir con detenimiento a los animales para correlacionar las reacciones serológicas y las manifestaciones clínicas, pero sin lugar a dudas muchos de los seroreactores fueron los más propensos en desarrollar lesiones testiculares. Esta aparente correlación pudo ser evaluada en un grupo de 33 animales que se encontraban adecuadamente identificados al momento de iniciar el estudio.

El tiempo que toma la bacteria para ingresar y producir alteraciones patológicas en el tracto reproductor en la etapa reproductiva es corto comparado con lo descrito en condiciones experimentales. Similares resultados de rápida diseminación de la *B. ovis* fueron obtenidos en un trabajo de campo realizado con un reducido grupo de carneros sometidos a empadres experimentales (Rosadio et al., 1977). La estimulación hormonal durante el empadre ha sido sugerida como un posible factor de aceleración migratoria de la bacteria desde los genitales externos hacia el testículo (Searson, 1986). Esto podría explicar la rápida evolución de la enfermedad en los animales que se infectan durante el empadre apareando borregas previamente servidas por machos enfermos.

Los resultados del presente trabajo evidencian que es suficiente un periodo de empadre para que animales infectados desarrollen lesiones y que animales libres de la infección se infecten. Estos resultados también refuerzan y enfatizan la necesidad de

realizar pruebas serológicas para detectar animales infectados como parte de las medidas de control de la enfermedad. Tradicionalmente se recomienda tres palpaciones testiculares al año (esquila, antes y después del empadre) (Kimberling et al., 1986; Moro, 1965; Morales, 1997), sin embargo, debería realizarse además durante la campaña de empadre. Por otro lado, si se quiere disminuir las pérdidas asociadas por la infección es recomendable realizar exámenes serológicos en animales sin lesiones testiculares y eliminar a todo seroreactor. Por último, es aconsejable utilizar sistemas de vacunaciones, o de inseminación artificial para disminuir drásticamente la infección entre la población de machos.

#### LITERATURA CITADA

1. Alba, M. 1996. Prevalencia de epididimitis por *Brucella ovis* en la SAIS Pachacutec. Tesis. Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 31 p.
2. Ameghino, E. 1988. Avances sobre investigación en salud animal – ovinos. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, IVITA. Bol. Div. 21: 41-48.
3. Ameghino, E.; N. Véliz. 1970. Epidemiología de la brucelosis ovina en la sierra central. Bol. Ext. IVITA 4: 268-282.
4. INIAA. Dirección General de Investigación Pecuaria. 1990. Mejoramiento de la producción andina de ovinos y alpacas. Recomendaciones de una década de investigación en el Perú. Perú. 212 p.
5. Kimberling, C.V.; K.S. Arnold; D.J. Schweiter; R.L. Jones; H. Von Byern; M. Lucas. 1986. Correlation of the presence of seminal white blood cells and the prevalence of separated spermatozoal heads with subclinical *Brucella ovis* infection in rams. J. Am. Vet. Med. Assoc. 189: 73-76.
6. Martin, W.B.; I.D. Aitken. 2000. Diseases of sheep. 3ª ed., Ed. Blacwell Science. London. p 512.
7. Morales, B. 1997. Brucelosis ovina. Pub. Tec. FMV 30. 9 p.

8. Moro, S.M. 1965. Enfermedades infecciosas de las alpacas y de los ovinos observados en el Perú. Epididimitis de los ovinos. Centro de Investigación IVITA. Perú. Bol. Div. 4: 33-38.
9. OIE. 1996. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. París. p 8-13.
10. Pinochet, L.; A. Pinto; M. Sánchez; M. Bertolino. 1987. Brucelosis ovina, vacunación con cepa 45/20 adyuvante. Avances en Ciencias Veterinarias 2: 47-50.
11. Rosadio, R.; N. Véliz; E. Ameghino. 1977. Epididimitis de los ovinos. Comportamiento de la *Brucella ovis* durante la época de empadre. IV Congreso Peruano de Microbiología y Parasitología.
12. Ruelas, D. 1999. Desarrollo y estandarización de una prueba de ELISA indirecta para brucelosis ovina. Tesis de Maestría, Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 61 p.
13. Searson, J.E. 1986. Distribution of *Brucella ovis* in the tissues of rams reacting in a complement fixation test for ovine brucellosis. Austr. Vet. J. 63: 30.
14. Snedecor, G.W.; W.G. Cochran. 1986. Statistical Methods. 7<sup>a</sup> ed. The Iowa State University Press.
15. Véliz, N.; B. Pizarro. B. 1997. Estudio de brucelosis en carneros criollos. Rev. Inv. Pec. IVITA, Perú 8: 56-58.
16. Walker, R.L.; B.R. Lea Master; J.N. Stellflug; E.L. Biberstein. 1985. Use of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Brucella ovis* in sheep: Field trial. Am. J. Vet. Res. 46: 1642-1645.
17. Zaldivar, R. 1974. Avances de las investigaciones pecuarias. Centro de Investigación IVITA. Bol. Div. 15: 112.