INFECCION EXPERIMENTAL POR *Brucella ovis* EN OVEJAS GESTANTES

M.J. Grilló, M.P. Jiménez de Bagüés, C.M. Marín, M. Barberán, J.M. Blasco.
Dpt. Sanidad Animal. SIA/DGA. 50080 Zaragoza.

INTRODUCCION

La infección natural por *B. ovis* afecta exclusivamente a la especie ovina, produciendo un cuadro característico en moruecos denominado "Epididimitis Infecciosa". Existe una escasa y controvertida información acerca de los efectos clínicos de esta infección en ovejas y, aunque se han descrito casos de abortos y mortalidad perinatal, es una idea muy generalizada que esta infección afecta exclusivamente a los machos, considerándose despreciable el papel epidemiológico jugado por las hembras en la transmisión de la misma (Blasco 1990).

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar las consecuencias reproductivas, la distribución y la duración de la infección por *B. ovis* en ovejas sometidas a una infección experimental en dos etapas distintas de la gestación.

MATERIAL Y METODOS

Experiencia 1. Primera gestación. Se utilizaron 41 ovejas de raza Rasa Aragonesa de 12 meses de edad, libres de *Brucella* y mantenidas en estabulación permanente. Tras sincronizar celos mediante tratamiento hormonal convencional, se cubrieron con moruecos libres de *Brucella* y la gestación detectada mediante ecografía. Las 40 ovejas detectadas como gestantes se separaron en dos grupos para realizar la infección experimental en dos etapas distintas de gestación: uno formado por 24 animales, fue inoculado entre 1,5 y 2,5 meses de gestación (grupo A) y otro constituido por 16 animales (grupo B), inoculado durante el último mes de gestación. La cepa de *B. ovis* utilizada para la inoculación experimental, era una cepa de campo recientemente aislada de carneros con infección natural. Los animales del grupo A fueron inoculados conjuntivalmente con $1,6 \times 10^9$ *B. ovis* y los del grupo B con $1,1 \times 10^9$ *B. ovis*. Tras la inoculación se tomaron muestras de sangre cada 15 días, para estudio serológico, y escobillones vaginales cada semana para estudio bacteriológico. Desde el momento del parto, se realizó la misma toma de muestras incluyéndose además, una muestra de leche tomada a intervalos semanales para estudio bacteriológico. Dieciseis ovejas (13 del grupo A y 3 del grupo B) fueron sacrificadas tras el destete. De cada animal sacrificado se tomaron muestras de útero, bazo, leche y ganglios linfáticos craneales (parotídeos, submaxilares y retrofaríngeos), prescapulares, prefemorales, ilíacos y supramamarios para determinar la distribución de la infección.
Experiencia 2. Segunda gestación. Las 24 ovejas restantes (11 del grupo A y 13 del grupo B), todas ellas habiendo excretado *B. ovis* de una forma continuada por vagina y/o leche, fueron cubiertas de nuevo, inmediatamente después del destete, con moruecos libres de *Brucella*, con la finalidad de determinar si la infección se mantenía hasta la segunda gestación. Una vez confirmado el diagnóstico de gestación por ecografía (la totalidad quedo gestante), se procedió a la toma de muestras para serología y bacteriología como se ha descrito en el caso anterior.

El estudio serológico se realizó mediante la prueba de Doble Difusión en Gel (DDG) con antígeno específico (Marín et al., 1989). El estudio bacteriológico de los

escobillones vaginales y leche se realizó mediante siembra directa por duplicado en el medio de Thayer-Martin modificado (Molina et al., 1993) e incubación a 37°C en atmósfera con 10% de CO_2 durante 7 días. Las muestras tomadas en la necropsia fueron homogenizadas en una pequeña cantidad de PBS esteril y sembradas e incubadas de la misma manera descrita anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Experiencia 1. Primera gestación. Entre tres y cuatro semanas después de la infección experimental la totalidad de los animales dió resultado serológico positivo y más del 80% continuaron positivos a lo largo de toda la gestación, no habiendo diferencias significativas en la respuesta serológica entre ambos grupos de animales. La duración de la gestación fué normal en todos los animales (149±1,7 días) independientemente del periodo de gestación en que fueron inoculados. Sin embargo, 4 ovejas (3 del grupo A y 1 del grupo B) abortaron a término, aislándose *B. ovis* en 2 de ellas, pertenecientes al grupo A. Aunque no se determinó el peso exacto, muchos de los corderos del grupo A presentaron un tamaño reducido al nacimiento y la mortalidad durante las dos primeras semanas de vida fué superior en este grupo (11% y 7% en los grupos A y B, respectivamente), a la obtenida rutinariamente en condiciones normales en nuestra explotación.
Durante la gestación 4 (16,6%) de las ovejas del grupo A excretaron *B. ovis* por la vagina (Tabla 1). El primer animal que presentó excreción vaginal fue detectado un mes después de la inoculación, lo cual puede explicar el que ninguno de los animales inoculados durante el último mes de gestación (grupo B) presentase este tipo de excreción antes del parto (Tabla 1). En el momento del parto, el porcentaje de ovejas excretoras (Tabla 1) fue significativamente superior en el grupo A que en el grupo B ($p<0,0005$). El porcentaje máximo de animales excretores se obtuvo en el grupo A durante la primera semana tras el parto. En este grupo A, la excreción vaginal fue disminuyendo progresivamente hasta el destete, mientras que la excreción en leche se mantuvo durante toda la lactación. En el grupo B, el porcentaje máximo de excretores en leche fue similar al del grupo A y se obtuvo en la segunda semana tras el parto. Durante la lactación, el porcentaje de excretores vaginales en el grupo B fue muy superior al del grupo A ($p<0,005$). A partir de la tercera semana tras el parto el porcentaje de excretores del grupo B se redujo considerablemente, llegando a ser muy inferior al del grupo A ($p<0,0005$) en el momento del destete. La duración media de la excreción tras el parto fue muy similar en ambos grupos de animales (3,9 semanas por vagina en ambos grupos y 5 y 3,9 semanas por leche en el grupo A y B, respectivamente).

TABLA 1. Número de ovejas que excretaron *B. ovis* por vagina y leche después de la infección experimental durante la primera mitad (grupo A) o el último mes (grupo B) de la primera gestación.

Grupo	Antes	Parto		Lactacion		Destete	
	parto	Vagina	Leche	Vagina	Leche	Vagina	Leche
A	4/24 (16)	20/24 (83)	15/24 (60)	15/24 (62)	15/24 (62)	8/24 (33)	11/17 (65)
B	0/16 (0)	6/16 (37)	1/16 (6)	13/16 (81)	10/16 (62)	1/16 (6.2)	4/14 (29)

B. ovis se aisló en 8 de las 14 ovejas (57%) del grupo A y en 2 de las 3 ovejas del grupo B que fueron sacrificadas para estudio bacteriológico en el

momento del destete (aproximadamente 6 meses después de la inoculación experimental). Los órganos diana de la infección fueron los ganglios iliacos, el bazo, el útero y el contenido de la cisterna mamaria. La distribución de la infección resultó muy similar en ambos grupos de animales, si bien hay que considerar que el número de animales estudiados en el grupo B fue muy pequeño.

Experiencia 2. Segunda gestación. La respuesta serológica se mantuvo en muchos animales durante la segunda gestación, existiendo importantes diferencias entre ambos grupos de animales (70,8% de positividad en el grupo A y 46,15% en el grupo B en el momento del sacrificio, que tuvo lugar aproximadamente entre 11 y 14 meses tras la inoculación). La duración de la gestación fue normal en todas las ovejas. Tan solo se produjo un aborto (en una oveja del grupo A), del que no se consiguió aislar *B. ovis* . Además, ningún animal excretó durante la gestación. Sin embargo, en el momento del parto 3 animales (uno del grupo A y 2 del grupo B) excretaron exclusivamente en leche. La excreción en leche continuó en estos tres animales hasta el momento del sacrificio, que se llevó a cabo en la totalidad de animales alrededor de un mes tras el parto para exámen bacteriológico. Los tres animales mencionados presentaron una infección mayoritariamente localizada en la glándula mamaria (ganglio supramamario y leche). Los 5 corderos hijos de estas tres ovejas infectadas fueron también sacrificados en la misma fecha para estudio bacteriológico. *B. ovis* no fue aislada en ninguno de ellos ni tampoco del resto de ovejas sacrificadas.

En conclusión, la infección experimental de *B. ovis* en ovejas gestantes se acompañó de una excreción por vagina y leche en la mayor parte de los animales. Sin embargo, la inoculación durante la primera mitad de gestación provocó una infección más intensa y duradera que cuando la inoculación se realizó durante el último mes de gestación. Las consecuencias reproductivas de esta infección fueron poco relevantes, aunque el porcentaje de mortalidad perinatal obtenido en la primera gestación fue superior al obtenido normalmente en condiciones naturales en nuestra explotación. Un porcentaje muy elevado de ovejas es capaz de autocurarse de la infección de una gestación a la siguiente, poniendo de manifiesto la relativamente baja patogenicidad de *B. ovis*, característica habitualmente aceptada para esta especie bacteriana (Blasco 1990). Sin embargo, un pequeño porcentaje de animales es capaz de mantener una infección mamaria persistente, que podría tener importantes repercusiones en la epidemiología de la infección y explicar numerosos fracasos en los intentos de erradicarla controlando exclusivamente los moruecos (Marco et al., 1994).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado en parte por la CICYT (proy. 1187). La beca de M.J. Grilló es financiada por el MEC.

BIBLIOGRAFIA

Blasco J.M., 1990. Brucella ovis. En: Animal Brucellosis. Nielsen & Duncan Ed., CRC Press. Boca Raton. USA. 351-378.
Marco, J., et al. 1994. Vet. Rec., 135, 254-256.
Marín, C.M., et al., 1989. Vet. Rec., 125, 504-508.
Molina, L., et al., 1993. ITEA, 12, 539-541.