

ASOCIACIÓN ENTRE INFECCIÓN LEPTOSPIRAL Y PROBLEMAS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE UNA EMPRESA GANADERA EN LA SIERRA CENTRAL DEL PERÚ

ASSOCIATION OF LEPTOSPIRA INFECTION AND REPRODUCTIVE PROBLEMS IN A LARGE SHEEP FARM IN THE CENTRAL HIGHLANDS OF PERU

Andrea Flores M.¹, Hermelinda Rivera G.^{1,2} y César Gavidia Ch.³

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la asociación entre la infección por *Leptospira* sp. y la presentación de problemas reproductivos en ovejas de dos localidades de una Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS), en Junín, durante la campaña reproductiva del 2003, a través de un estudio de Caso-Control. Se colectaron muestras de suero de ovejas entre 2 a 10 años de edad que abortaron o que no quedaron gestantes después de uno o dos empadres (grupo Caso: n = 220) y de borregas sin problemas reproductivos (grupo Control: n = 220) para determinar anticuerpos contra *Leptospira*, serovares *pomona*, *hardjo*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *wolffi*, *ballum* y *bratislava*, mediante la técnica de microaglutinación. La frecuencia de *Leptospira* sp. fue de $24.8 \pm 4.6\%$, correspondiendo al grupo Caso $28.6 \pm 7.0\%$ y al grupo Control $20.9 \pm 5.9\%$. No se encontró asociación estadística entre las variables presencia de anticuerpos y problemas reproductivos mediante el análisis de Chi Cuadrado. Los serovares detectados con mayor frecuencia fueron *ballum* con 42.2% (46/109) seguido por *icterohaemorrhagiae* con 31.2% (34/109). Se detectó animales con anticuerpos contra más de un serovar de *Leptospira*.

Palabras clave: ovinos, borregas, *Leptospira* sp., abortos, anticuerpos, microaglutinación

ABSTRACT

The association between leptospiral infection and reproductive problems in ewes from a large sheep enterprise in Junin, Peru, was evaluated in a Case-Control study during the breeding season of 2003. Serum samples from 2-10 year-old ewes with abortion or infertility problems (Case group, n = 220) and from ewes without reproductive problems (Control group, n = 220) were collected for the detection of antibodies against *Leptospira* serovar: *pomona*, *hardjo*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *wolffi*, *ballum* and *bratislava* by the microscopic agglutination test. The prevalence of *Leptospira* sp. was $24.8 \pm 4.6\%$, corresponding $28.6 \pm 7.0\%$ to the Case group and $20.9 \pm 5.9\%$ to the

¹Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, ³Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

²E-mail: hriverag2005@yahoo.es

Control group. No statistic association between leptospiral antibodies and reproductive problems was found by the Chi Square test. The highest serological prevalence (42.2%) was recorded for serovar *ballum* followed by *icterohaemorrhagiae* (31.2%). Animals with antibodies to more than one serovar of *Leptospira* were detected.

Key words: sheep, ewe, *Leptospira* sp., abortion, antibodies, microscopic agglutination test

INTRODUCCIÓN

La población ovina en el Perú es, aproximadamente, de 12 085 683 cabezas (INEI, 1994), distribuyéndose mayormente en la sierra, seguido de la costa y la selva (DGIA, 2002). El 70% de esta población pertenece a comunidades campesinas y criada en sistemas de tipo extensivo y mixto, con escasa o ninguna tecnología. Sin embargo, en la Sierra Central existen dos empresas campesinas o SAIS (Sociedad Agrícola de Interés Social) que han logrado un aceptable nivel tecnológico y rebaños entre 80 000 y 120 000 cabezas que les permite manejar una ganadería más rentable (DGIA, 2002).

Los ovinos, como otros rumiantes domésticos, son afectados por agentes infecciosos que les ocasionan abortos, mortalidad perinatal, etc. Dentro de los agentes bacterianos causantes de estos problemas se encuentra la *Leptospira* sp. (Schoenian, 2000), que son bacterias de amplia distribución mundial y de compleja epidemiología (Liceras, 1989). Estudios de prevalencia en humanos, así como en algunas especies de animales domésticos y silvestres en el Perú, confirman su difusión en el país (Liceras, 1989).

El aborto y, en general, los problemas reproductivos, ocasionan pérdidas económicas para el ganadero y son de difícil diagnóstico debido a su variada etiología. En el ovino, a diferencia del bovino, donde la ocurrencia del aborto y otros problemas reproductivos superan el 10% (Rivera, 2001), el aborto constituye el 6%; pero en este caso, donde se tra-

ta de miles de animales que conforman un rebaño, las pérdidas económicas son cuantiosas para la empresa o el criador (Gamarra M, comunicación personal).

No se dispone de información sobre el rol de las *Leptospira* en la presentación de los problemas reproductivos en ovinos del país, por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la asociación entre la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp. y los problemas reproductivos en borregas de una SAIS durante la campaña reproductiva del 2003.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos zonas (I y II) de pastoreo de una Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS), ubicada entre 3500 a 4700 msnm, en Huancayo, Junín. Se trabajó con borregas de raza Junín de entre 2 a 10 años de edad durante la faena del perneo, que es el diagnóstico de la preñez mediante el baloteo del vientre y la marcación de los corderos, actividad que se realiza en noviembre de cada año.

Las borregas que fueron diagnosticadas como vacías después del primer empadre (vacías x 1) y que tampoco preñaron en el segundo empadre (vacías x 2) y aquellas que abortaron constituyeron el grupo CASO (n = 220) mientras que el grupo CONTROL (n = 220) estuvo constituido por borregas que no tuvieron problemas reproductivos durante esa campaña reproductiva (año 2003).

Se obtuvo muestras de sangre de la vena yugular o safena con agujas y tubos vacutainers. El suero fue obtenido por centrifugación y transportado al Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Lima, para su procesamiento.

Se evaluó la presencia de anticuerpos contra los siguientes serovares de *Leptospira*: *pomona*, *hardjo*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *wolffi*, *ballum* y *bratislava*, mediante la prueba de Microaglutinación (MAT) empleando antígeno vivo de dichos serovares y de acuerdo al protocolo descrito en el Manual de Leptospirosis de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD, 1994). Una muestra fue considerada positiva a anticuerpos contra *Leptospira* cuando al ser diluida en 1:100, fue capaz de aglutinar al 50% ó más de las leptospiras presentes en el campo de observación del microscopio de campo oscuro.

La asociación entre la seropositividad a *Leptospira* y presentación de problemas reproductivos en las borregas se analizó mediante la prueba de Chi Cuadrado y el software STATA®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de *Leptospira* sp. en la población de borregas en estudio fue de $24.8 \pm 4.5\%$ (109/440), correspondiendo al grupo CASO $28.6 \pm 7.0\%$ (63/220) y al grupo CONTROL $20.9 \pm 5.9\%$ (46/220). No se encontró significancia estadística entre las variables presencia de anticuerpos y ocurrencia de problemas reproductivos. Asimismo, las borregas con problemas reproductivos de ambas zonas de pastoreo presentaron similares porcentajes de animales serorreectores a *Leptospira* sp. (Cuadro 1).

Se encontró una frecuencia de anticuerpos contra 6 de 8 serovares de *Leptospira* sp. de $24.8 \pm 4.5\%$ (109/440) en borregas con o sin problemas reproductivos. Esto es una evidencia de infecciones naturales de *Leptospira*, ya que en el calendario sanitario que utiliza la SAIS en estudio no figura la vacunación contra esta bacteria.

La presencia de anticuerpos contra los serovares de *Leptospira pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *ballum* y *wolffi* (Cuadro 3), indica que estos agentes están distribuidos en la zona y que existen condiciones ambientales óptimas como humedad, ojos de agua, suelo neutro a ligeramente alcalino, etc., y de la presencia de hospedadores de mantenimiento que pueden ser roedores u otros animales silvestres o domésticos en los cuales la infección es de tipo subclínico, pero con eliminación de la bacteria por la orina contaminando el agua y los pastos (Bolin y Alt, 1998; Vanasco *et al.*, 2001).

La falta de asociación entre las variables presencia de anticuerpos y problemas reproductivos durante la campaña del 2003 en las borregas podría deberse a factores medioambientales, compleja epidemiología de la leptospirosis, escasa información sobre la generación y duración de la inmunidad humoral en las borregas frente a este agente, etc. Los resultados serológicos, sin embargo, sugieren que la *Leptospira* podría ser uno de los agentes involucrados en la presentación del aborto o infertilidad ya que los serovares *ballum*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona* y *grippotyphosa* tienen mayores frecuencias en el grupo CASO, incluso algunos con títulos de anticuerpos de 3200 comparado con el grupo CONTROL (Cuadros 3 y 4).

Dentro del grupo de animales seropositivos se detectaron animales con anticuerpos hasta contra tres serovares, lo cual implica infecciones mixtas. La asociación entre serovares *icterohaemorrhagiae* y *ballum* (14.68%) fue la más frecuente (Cuadro 2), siendo los hospedadores de mantenimiento de estos serovares los roedores silvestres. También, el mayor número de borregas con infecciones mixtas y con títulos de anticuerpos entre 100 y 800 se observaron en el grupo CASO. No obstante, la presencia de anticuerpos en diluciones bajas como 100 en las borregas con infecciones mixtas, podría deberse a reacciones cruzadas entre algunos serovares, sobre todo durante infecciones agudas; sin embargo, en títulos mayores a 400, es más probable que se deban a serovar específico (Cuadros 3 y 4). Se menciona que los anticuerpos serovar específico predominan en el animal durante la convalecencia (Awad y Willinger, 1982).

La ausencia de anticuerpos contra los serovares *hardjo* y *bratislava* es rara, ya que estos serovares han sido detectados en bovinos y ovinos (Hathaway *et al.*, 1982; Ellis, 1994; Zamora *et al.*, 1999; Ochoa *et al.*, 2000); aunque Blackmore *et al.* (1979) mencionan que el serovar *hardjo*, a diferencia del bovino, no es endémico en ovinos, pero puede afectarlos esporádicamente. Los serovares de menor frecuencia fueron *canicola* y *wolffi*, ambos con títulos bajos, pudiendo tratarse también de reacciones cruzadas con otros serovares, y solo fueron detectados en el grupo CASO. En un estudio realizado en humanos, bovinos y perros del valle del Mantaro, se reporta anticuerpos contra el serovar *canicola* (2.8%) en las tres especies estudiadas, pero solo *wolffi* (0.9%) en bovinos (Céspedes *et al.*, 2003), indicando que ambos serovares están presentes en la Sierra Central pero que sus prevalencias en las zonas de estudio podrían haber sido bajas. El hospedador de mantenimiento del serovar *canicola* es el perro y en las puntas de las borregas existen perros ovejeros; sin embargo, la baja prevalencia en las zonas de

estudio disminuye el riesgo de infección para los perros.

En el país no se dispone de información sobre la presentación clínica de leptospirosis en ovinos, pero la presencia de anticuerpos indica que la bacteria está presente y que la infección sería mayormente de tipo subclínica, o quizás está siendo confundida con otras infecciones. Sin embargo, se debe tener presente que ciertos serovares como *pomona* pueden ocasionar brotes de leptospirosis con alta mortalidad sobre todo en corderos (Vermunt *et al.*, 1994).

Existen escasos estudios epidemiológicos de Caso-Control de leptospirosis en ovinos que permitan contrastar el presente estudio. Sin embargo, el porcentaje de borregas serorreactoras en ambos grupos es mayor a la prevalencia de 15.3% reportada en el país por Quiroz (1969) y en otros países como Chile: 5.7% (Zamora *et al.*, 1999); Bolivia: 14.3% (Ciceroni *et al.*, 1997); Brasil: 8.6% (Barbudo Filho *et al.*, 1999); Italia: 6.1% (Ciceroni *et al.*, 2000); y Nueva Zelanda: 17.1% (Collings, 1984) entre otros, con excepción del estudio de Herrmann *et al.* (2004) realizado en Rio Grande do Sul, Brasil, donde se reporta una prevalencia de 34.3%, mayor a la obtenida en el presente estudio.

La prueba de MAT es la técnica de referencia para el diagnóstico de la leptospirosis (OIE, 2006). La prueba puede ser aplicada para detección de anticuerpos en varias especies de animales, incluyendo el hombre, e identifica el serovar infectante pero, a diferencia de la prueba de ELISA, no distingue las clases de inmunoglobulinas IgM o IgG que pudiera indicar infección temprana o tardía (Levett, 2001). No existen datos sobre el grado de sensibilidad y especificidad de la prueba, posiblemente porque depende de varios factores. En un estudio de comparación con la prueba de aglutinación en látex, se indica que la prueba de MAT tiene una sensibilidad de 85% cuando la infección tiene 30 días o más de haberse iniciado (Smits *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Animales del grupo CASO con anticuerpos contra *Leptospira* sp. de dos zonas de pastoreo en una SAIS de Huancayo (2003)

Tipo de problema reproductivo	Animales muestreados (n)	Animales positivos			
		Zona de pastoreo		Total	
		I	II	Nº	%
Abortos	133	16	18	34	25.56
Vacías x 1	34	11	2	13	38.24
Vacías x 2	53	11	5	16	30.19
Total	220	38	25	63	28.64

Cuadro 2. Ovejas serorreactoras a ocho serovares de *Leptospira* sp. en una empresa ganadera de la Sierra Central (2003)

Serovar de <i>Leptospira</i>	Animales positivos	
	Nº	%
<i>pomona</i>	5	4.6
<i>hardjo</i>	0	0
<i>canicola</i>	1	0.9
<i>icterohaemorrhagiae</i>	34	31.2
<i>grippotyphosa</i>	3	2.8
<i>wolffi</i>	0	0
<i>ballum</i>	45	41.3
<i>bratislava</i>	0	0
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>ballum</i>	16	14.7
<i>pomona</i> + <i>ballum</i>	3	2.8
<i>wolffi</i> + <i>grippotyphosa</i>	1	0.9
<i>Icterohaemorrhagiae</i> + <i>canicola</i> + <i>ballum</i>	1	0.9
Total	109	100%

Cuadro 3. Animales serorreacores en una empresa ganadera de la Sierra Central y títulos de anticuerpos aglutinantes contra los serovares de *Leptospira* sp. en el grupo CASO (2003)

<i>Leptospira</i> sp.	Positivos		Diluciones del suero				
	Nº	%	100	200	400	800	3200
<i>pomona</i>	5	7.9	4	0	0	1	0
<i>hardjo</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>canicola</i>	1	1.6	1				
<i>icterohaemorrhagiae</i>	14	22.2	7	7	0	0	0
<i>grippotyphosa</i>	3	4.78	1	1	0	1	1
<i>wolffi</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>ballum</i>	25	39.7	9	10	4	1	1
<i>bratislava</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>ballum</i>	10	17.5	4i/4b	6i/3b	3b	0	0
<i>pomona</i> + <i>ballum</i>	3	4.8	1	1p/3b	0	1	0
<i>wolffi</i> + <i>grippotyphosa</i>	1	1.6	1w	0	0	1g	0
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>canicola</i> + <i>ballum</i>	1	1.6	1c	0	1b	1i	0
Total	63	100					

i: *icterohaemorrhagiae*; b: *ballum*; p: *pomona*; g: *grippotyphosa*; w: *wolffi*; c: *canicola*

Cuadro 4. Animales serorreacores en una empresa ganadera de la Sierra Central y títulos de anticuerpos aglutinantes contra los serovares de *Leptospira* sp. en el grupo CONTROL (2003)

<i>Leptospira</i> sp	Positivos		Diluciones del suero				
	Nº	%	100	200	400	800	3200
<i>pomona</i>	0	0					
<i>hardjo</i>	0	0					
<i>canicola</i>	0	0					
<i>icterohaemorrhagiae</i>	20	43.5	17	3			
<i>grippotyphosa</i>	0	0					
<i>wolffi</i>	0	0					
<i>ballum</i>	20	43.5	9	6	5		
<i>bratislava</i>	0	0					
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>ballum</i>	6	13.0	3i/4b	2i/1b	1i/1b	0	0
Total	46	100					

i: *icterohaemorrhagiae*; b: *ballum*

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Máximo Gamarra Rojas por las valiosas informaciones sobre el sistema de manejo y problemas reproductivos de la población ovina de la SAIS en estudio. Asimismo, al Sr. Ricardo Ibáñez Zamudio por su excelente apoyo en la preparación de los antígenos de *Leptospira* sp. y en la prueba de MAT.

LITERATURA CITADA

1. [AAVLD] *Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico*. 1994. Manual de Leptospirosis. Buenos Aires, Argentina: AAVLD. 50 p.
2. Awad M, Willinger H. 1982. Evaluation of 2-mercapto-ethanol treatment in serodiagnosis of swine leptospirosis. *Microbiologica* 6: 133-143.
3. Barbudo Filho J, Girio RJS, Mathias LA, Oliveira AV, Marinho M. 1999. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira interrogans* em soros de ovinos do estado de São Paulo. Avaliação do sorotipo jequitaiá de *Leptospira biflexa* como antígeno de triagem sorológica. *Ars Vet* 15(1): 26-32.
4. Blackmore DK, Bahaman AR, Marshall RB. 1979. The epidemiological interpretation of serological responses to leptospiral serovars in sheep. *NZ Vet J* 30: 38-42.
5. Bolin C, Alt DP. 1998. Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. *Bovine Pract* 33(1): 50-55.
6. Céspedes M, Llantoy L, Arizapana M, Unsihuay J. 2003. Seroprevalencia de leptospirosis en humanos, vacunos y perros en establos del valle del Mantaro. *Rev Per Med Exp Salud Pública* 20(3)S: S1-S3.
7. Ciceroni L, Bartoloni A, Pinto A, Guglielmetti P, Valdez C, Gamboa H, Roselli M, Giannico F, Paradisi F. 1997. Serological survey of leptospiral infections in sheep, goats and dogs in Cordillera province, Bolivia. *New Microbiol* 20(1): 77-81.
8. Ciceroni L, Lombardo D, Pinto A, Ciarrocchi S, Simeoni J. 2000. Prevalence of antibodies to *Leptospira* in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. *J Vet Med* 47: 217-223.
9. Collings DF. 1984. *Leptospira interrogans* infection in domestic and wild animals in Fiji. *NZ Vet J* 32: 21-24.
10. [DGIA] *Dirección General de Información Agraria*. 2002. Situación actual de la crianza de ovinos en el Perú. Ministerio de Agricultura. [Internet]. Disponible en: www.minag.gob.pe/portalagrario
11. Hathaway S C, Little TW, Stevens AE. 1982. Serological survey of leptospiral antibodies in sheep from England and Wales. *Vet Rec* 110: 99-101.
12. Herrmann G, Pereira A, Moreira E, Haddad J, Rescende J, Rodríguez R, Leite R. 2004. Soroprevalencia de aglutininas anti-*Leptospira* sp. em ovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural* 34(2): 443-448.
13. [INEI] *Instituto Nacional de Estadística e Informática*. 1994. III Censo Nacional Agropecuario. [Internet]. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe>
14. Levett P. 2001. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 14: 296-326.
15. Liceras de Hidalgo J, Valdivia S, Higushi E. 1989. Leptospirosis en el Perú. En: *Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria*. Lima: MINSA. Programa Nacional de Control de Zoonosis. p 7-20.
16. Ochoa JE, Sánchez A, Ruiz I. 2000. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Pública* 7(5): 325-331.
17. [OIE] *Organismo Internacional de Epizootias*. 2006. Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2.2.4. Leptospirosis. [Internet]. Disponible en: <http://www.oie.int/>

18. **Quiroz JE. 1969.** Encuesta serológica de leptospirosis en ovinos sacrificados en el camal de Yerbateros (Lima). Tesis Bachiller. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 35 p.
19. **Rivera H. 2001.** Causas frecuentes de aborto bovino. *Rev Inv Vet, Perú* 12(2):117-122.
20. **Schoenian S. 2000.** Infectious causes of abortion in ewes. *Western Maryland Research. University of Maryland.* [Internet]. Disponible en: www.sheepandgoat.com/articles/abortion.html
21. **Smits HL, Van Der Hoorn MA, Goris MG, Gussenhoven GC, Yersin C, Sasaki DM, Terpstra WJ, Hartskeerl RA. 2000.** Simple latex agglutination for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. *J Clin Microbiol* 38: 1272-1275.
22. **Vanasco NB, Lottersberger J, Sequeira M, Tarabla H. 2001.** Development and validation of an ELISA for the detection of leptospire-specific antibodies in rodents. *Vet Microbiol* 82: 321-330.
23. **Vermunt J, West D, Arthur D, Marshall R. 1994.** Leptospirosis in a lamb. *NZ Vet J* 42: 155.
24. **Zamora J, Riedemann S, Tadish N. 1999.** A serological survey of leptospirosis in sheep in Chile. *Rev Latinoam Microbiol* 41(2): 73-76.