

# HISTOPATOLOGÍA Y BACTERIOLOGÍA DE TESTÍCULOS, EPIDÍDIMOS Y LINFONÓDULOS EN TOROS VACUNADOS CON CEPA RB51 DE *Brucella abortus*

## Histopathology and Bacteriology of Testes, Epididymus and Lymphonodules in Bulls, RB51 Strain *Brucella abortus* Vaccine

Francisco Vargas<sup>1</sup>, Sergio Rivera<sup>2</sup>, Gerardo De Pool<sup>2</sup>, Oswaldo Vale-Echeto<sup>3</sup>, Milagros Montiel<sup>4</sup> y Gerhardt Schurig<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina y Cirugía, Decanato de Ciencias Veterinarias, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), Venezuela.

<sup>2</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela.

<sup>3</sup>Policlínica Veterinaria, FCV-LUZ, Venezuela. <sup>4</sup>Laboratorio de inmunología, Banco de Sangre, Facultad de Medicina, LUZ, Venezuela.

<sup>5</sup>College of Veterinary, Virginia Tech Polythecnic, USA.

### RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo, determinar el efecto de la vacunación de toros adultos con la cepa RB51 de *Brucella abortus* sobre calidad de semen y órganos reproductivos. Se seleccionaron 20 toros mestizos de razas cebuinas, con una edad promedio de 3 años, de la zona sur del lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Los animales se dividieron en dos grupos: Un primer grupo (n=10) recibió una dosis simple de 10 mil millones de UFC de cepa RB51 de *Brucella abortus* en 2 mL por vía subcutánea y un segundo (n=10) no recibió vacunación. Los toros fueron muestreados mensualmente, realizando una evaluación andrológica completa. A los 90 días postvacunación, se sacrificaron para enviar muestras de órganos genitales y ganglios ilíacos e inguinales para bacteriología e histopatología. Todos los animales resultaron negativos en la identificación bacteriológica de la cepa RB51 a nivel de semen, órganos reproductivos y linfonódulos ilíacos e inguinales hasta los 90 días postvacunación. No se encontraron lesiones en órganos reproductivos al examen clínico. En el estudio histopatológico de linfonódulos ilíacos e inguinales, se observó una hiperplasia reticular significativamente mayor en animales vacunados que en el grupo control ( $P < 0,05$ ), caracterizada por un incremento de células linfocíticas a nivel de los centros germinativos de Fleming. No se encontraron alteraciones del epitelio germinativo testicular y del epitelio de los ductos epididimarios, aunque se encontró un leve infiltrado linfoplasmocitario periarteriolar, con mayor frecuencia en animales vacunados

que en el grupo control, sin diferencias estadísticamente significativas. Se concluye que la cepa RB51 de *Brucella abortus* puede ser usada en toros adultos a una dosis de 10 mil millones de UFC/mL, puesto que no se excreta a través del semen y no produce lesiones histopatológicas ni crecimiento bacteriológico en órganos reproductivos ni en linfonódulos.

**Palabras clave:** Toros, RB51, *Brucella abortus*, histopatología, bacteriología, semen.

### ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the effect of vaccinating mature bulls with the strain RB51 of *Brucella abortus*, on semen quality and reproductive organs. Twenty (20) crossbred bulls of Zebu breeds were selected at an average age of 3 years from a farm located at the southern tip of the Maracaibo Lake region, Zulia state, Venezuela. The animals were separated in two groups: The first one (n = 10) received a single dose of 10 Billion UFC of *Brucella abortus* of the n RB51 strain in a 2 mL subcutaneous injection. The second group (n=10) did not receive the vaccination. The bulls were sampled monthly using a complete breeding soundness examination. The animals were slaughtered and samples of genital organs, iliac ganglions and inguinal lymphatic-nodules were obtained for bacteriology and histo-pathology studies at 90 days post-vaccination. All animals resulted negative in the bacteriological identification of the strain RB51 in semen, reproductive organs, iliac and inguinal lymphatic-nodules up until 90 days post-vaccination. There were no lesions in reproduc-



tive organs observed by clinical examination. Under histopathology examination of the iliac and inguinal lymphatic nodules, a significantly greater reticular hyperplasia was observed in vaccinated animals than in the control group ( $P < 0,05$ ), characterized by an increment of lymphocytic cells in the Fleming germinative centers. Alterations in testicular germinative epithelium, and in the epididymarium ducts were not observed, although a light peri-arteriolar lympho-plasmocitarian infiltration was found with higher frequency in vaccinated animals than in the control group, but with no significant statistical difference. In conclusion, the strain RB51 of *Brucella abortus* can be used in the vaccination of mature bulls in a single dose of 10 billion UFC/mL, since it is not excreted through the semen and it produces neither histo-pathological lesions nor bacterial growth in reproductive organs and lymph nodules.

**Key words:** Bulls, RB51, *Brucella abortus*, histo-pathology, bacteriology, semen.

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infecciosa causada por bacterias del género *Brucella*, que afecta tanto al hombre como a las diferentes especies animales, en especial al bovino, constituyendo una zoonosis de importancia económica y para la salud pública mundial [1]. La especie *Brucella abortus*, causante de la enfermedad en bovinos, es la que mayores pérdidas económicas ha producido a la ganadería a nivel mundial y se caracteriza por producir en esta especie, abortos en el último tercio de la gestación, cifras elevadas de infertilidad, nacimiento de crías débiles y orquitis en machos con eliminación de la bacteria a través del semen [8].

La transmisión a los humanos, ocurre por el contacto directo con fetos abortados, placentas y secreciones provenientes de animales infectados. La ruta de infección puede ser por lesiones en la piel, a través de la conjuntiva u otras membranas mucosas, el consumo de productos lácteos no pasteurizados y la inhalación de aerosoles conteniendo el microorganismo [23].

La eliminación de animales reactivos positivos basado en las pruebas de diagnóstico serológico, es sin duda la medida más efectiva para el control y erradicación de la enfermedad en el rebaño [4]. Sin embargo, se presenta el inconveniente de la interferencia de anticuerpos vacunales con las pruebas de diagnóstico convencionales, ya que la vacunación con cepa 19, induce la formación de anticuerpos contra el antígeno "O" del lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de la bacteria y las pruebas de diagnóstico utilizan como antígeno este mismo LPS, por lo que no es posible diferenciar animales vacunados de infectados [26].

Diferentes estudios han tratado de resolver el inconveniente de interferencia con las pruebas serológicas, por lo que se han desarrollado cepas mutantes rugosas que son deficientes

en el antígeno O del Lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de la bacteria, que es el antígeno inmunodominante hacia el cual va dirigido principalmente la respuesta humoral medida en estas pruebas. Entre estas cepas se encuentra la RB-51, que ha sido probada con efectividad en hembras bovinas con excelentes resultados en cuanto a la protección contra la enfermedad sin interferencia con las pruebas de diagnóstico convencionales [18].

En estudios experimentales, la RB-51 ha demostrado ofrecer una adecuada protección contra *B. abortus* en modelos experimentales en ratones [27] y en cabras [22]. Además es capaz de proveer protección contra infección y aborto en vacas [3]. Los resultados a nivel de campo demuestran también que la vacuna confiere una adecuada protección en bovinos en fincas con alta y baja prevalencia de la enfermedad [15]. Su uso en vacas preñadas, ha demostrado que la vacuna no induce aborto aun cuando ha sido utilizada por vía intravenosa en forma experimental [19], mostrando una gran seguridad para su empleo en vacas adultas preñadas por vía subcutánea y a 1/10 de la dosis recomendada para becerras [20].

En Venezuela, ya ha sido aprobada la importación de esta vacuna, por lo que se hace necesario realizar diferentes estudios a fin de determinar la efectividad de la misma y los usos que se le puedan dar a la misma dentro del programa de control y erradicación de la enfermedad. Hasta el presente, en Venezuela sólo se ha realizado un trabajo de investigación con el uso de esta cepa en la vacunación de bovinos en fincas de alta y baja prevalencia de la enfermedad, llevado a cabo por Lord y col. [15] obteniéndose resultados positivos en la prevención de la enfermedad.

En relación al uso de la vacuna en toros, existe hasta el presente sólo un trabajo de investigación publicado realizado por Edmonds y col. [9], donde se midió el grado de colonización de la cepa en órganos reproductivos y la excreción a través del semen por un período de 5 semanas postvacunación en 6 toros. Sin embargo, se hace necesario evaluar estos efectos en una muestra mayor y por un período de tiempo mayor.

El objetivo de este estudio fue determinar posibles efectos patológicos que produce la vacunación en toros adultos, con la cepa RB51 de *Brucella abortus* sobre testículos, epidídimos y linfonódulos iliacos e inguinales. Así mismo, como objetivos específicos, se estableció determinar el nivel de excreción seminal de la cepa y el efecto de la vacunación sobre la calidad del semen por un período de 70 días postvacunación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Selección de los animales

De la población en estudio, se tomó una muestra aleatoria de 20 bovinos machos raza mestizo cebú, con una edad promedio de 30 meses (entre 24 y 36 meses de edad), con un peso promedio de 470 kg, libres de brucelosis y otras enferme-



dades infectocontagiosas, pertenecientes a un rebaño comercial en una finca con alta prevalencia de brucelosis ubicada en la carretera hacia Santa Bárbara del Zulia, municipio Colón, estado Zulia, Venezuela (zona sur del lago de Maracaibo).

### Asignación por grupos y vacunación

- Grupo vacunado (n=10): Recibió una vacunación simple con cepa rugosa RB51 de *Brucella abortus* a una dosis de 10 mil millones de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en 2 mL por vía subcutánea [9].
- Grupo control (n=10): Recibieron como placebo la inoculación de 2 mL de solución salina por vía subcutánea.

La vacuna empleada para la investigación se encuentra disponible en el mercado venezolano y cumple con los estándares establecidos a nivel internacional y por el Instituto de Investigaciones Veterinarias de Venezuela, para su aplicación como vacuna que controla la brucelosis [21].

### Evaluación andrológica y seminal

Se realizó a los 0, 35 y 70 días postvacunación, comprendiendo los siguientes aspectos: Examen de órganos genitales externos (Escroto, testículo, epidídimo, cordón espermático, prepucio y pene); medida de circunferencia escrotal; examen de órganos genitales internos (conducto deferente, ampolla del conducto deferente, glándulas vesiculares y próstata); recolección de semen usando electroeyaculador; evaluación macroscópica del eyaculado (volumen, aspecto, densidad y color) y evaluación microscópica del eyaculado (motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de atipias espermáticas) [11, 14].

### Bacteriología de semen

Se realizó a los 0, 35 y 70 días postvacunación. Las muestras consistentes de 3 a 5 mL de semen fueron sembradas paralelamente en agar brucella y agar tripticasa soya (TSA) e incubadas hasta un máximo de 14 días a 37° C tanto en condiciones de aerobiosis como anaerobiosis (5% CO<sub>2</sub>). La identificación de *Brucella abortus* en colonias sospechosas se realizó por pruebas bioquímicas. La identificación de la cepa RB51 fue realizada en base a: morfología de las colonias (rugosas), habilidad para crecer en presencia de Rifampicina añadida al medio (250 µg/mL), habilidad de las colonias para teñirse con Cristal violeta y reducción de nitratos (negativo) [25].

### Histopatología y bacteriología de órganos genitales

Al final del experimento (90 días postvacunación), los animales fueron sacrificados extrayéndose testículos, epidídimos y linfonódulos ilíacos e inguinales. Se realizó el estudio macroscópico de estos órganos obteniéndose muestras para examen bacteriológico e histopatológico. La obtención de muestras de glándulas anexas al aparato reproductivo (glán-

dulas vesiculares y próstata), no pudo ser realizada debido a la dificultad para la recolección de estas muestras a nivel de matadero sin entorpecer las labores normales de matanza. Las muestras destinadas a estudio bacteriológico fueron maceradas en solución salina estéril (0,95%) y sembradas en agar brucella y agar tripticasa soya. La identificación de la cepa RB51 en colonias sospechosas a *Brucella abortus*, se realizó según el procedimiento señalado para estudio de semen [9].

Para el estudio histopatológico, se prepararon cortes por separado de testículo derecho e izquierdo; epidídimo derecho e izquierdo y ganglios ilíacos e inguinales derechos e izquierdos. Luego de separar los epidídimos se realizó un corte medio sagital de cada testículo iniciándose en el polo dorsal, observándose la consistencia al corte, posteriormente se realizaron cortes transversales de 1 cm de grosor incluyendo la extremidad dorsal, media y ventral de cada testículo. Los cortes fueron procesados según las técnicas señaladas por otros autores para estudio histopatológico de testículos y epidídimos [16, 28]. Secciones de 3 a 5 mm fueron cortadas de cada bloque de parafina y teñidas con coloración de hematoxilina-eosina (HE) siguiendo los estándares de preparación de tejidos para microscopía óptica señalados por DiFiore [7].

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se basó en la comparación de los grupos vacunados y control para determinar si existieron diferencias significativas entre ellos debido a la vacuna. Los resultados de los hallazgos clínicos e histopatológicos, fueron analizados mediante tablas de 2 x 2 para determinar asociación estadística entre los grupos vacunados y control por prueba de Ji cuadrado y cálculo del riesgo relativo (R.R) para medir la fuerza de esta asociación. La motilidad masal, motilidad individual y atipias de espermatozoides fueron analizadas mediante un ANOVA de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis utilizando como categoría la vacunación o no con cepa RB51 [6].

## RESULTADOS

Las muestras de semen, órganos reproductivos (testículos y epidídimo) y linfonódulos ilíacos e inguinales de animales vacunados analizadas, no mostraron crecimiento bacteriológico de la cepa RB51 de *Brucella abortus*.

En la evaluación clínica de los animales durante el transcurso del experimento no se observaron lesiones en órganos reproductivos debido a la vacunación. De igual manera, tampoco se apreciaron diferencias significativas en las mediciones de circunferencia escrotal entre el grupo vacunado y control, ni en las mediciones de motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de atipias espermáticas, las cuales estuvieron en todo momento dentro los parámetros establecidos por la Sociedad de expertos en Reproducción para considerar un semen como satisfactorio [11].



Los resultados del estudio histopatológico de linfonódulos ilíacos e inguinales mostraron que el 40% de los animales, pertenecientes al grupo vacunado y el 5% del grupo control, presentaron hiperplasia reticular, caracterizada por un incremento moderado de células linfocíticas y mononucleares, con un aumento significativo del tamaño de los centros germinativos de Fleming y, en algunos casos ligeros signos de inflamación subcapsular. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre el grupo vacunado y el grupo control con un riesgo relativo de ocho ( $RR=8$ ), indicativo de una fuerte asociación estadística que demuestran que esta reacción ganglionar se debió a la vacunación, TABLA I, FIGS. 1 y 2.

En el estudio histopatológico de los testículos, se observó que el 35% de los toros (25% pertenecientes al grupo vacunado y 10% al grupo control), mostraron un infiltrado linfoplasmocitario leve a nivel periarteriolar (periarterilitis), caracterizado por la presencia de células linfocíticas y plasmocíticas alrededor de las arteriolas en el intersticio testicular sin otros signos de inflamación, ni alteración del epitelio germinativo de túbulos seminíferos. No se observaron diferencias significativas entre el grupo vacunado y control para este hallazgo microscópico, TABLA II, FIGS. 3 y 4.

En el estudio histopatológico de los epididímos, se observó que el 75% de los toros (35% del grupo vacunado y 40% del grupo control) mostraron signos de fibrosis, caracterizada por un incremento del colágeno y células fibroblásticas en el espacio intersticial sin alteración del epitelio de los ductos epididimarios y, en algunos casos con leves infiltrados linfoplasmocitarios. No se observaron diferencias estadísticamente significativas para los hallazgos de fibrosis e infiltrados linfoplasmocitarios de epidídimo entre animales vacunados y no vacunados, TABLA III, FIG. 5.

## DISCUSIÓN

La vacunación de toros adultos con cepa RB51 de *Brucella abortus* a una dosis única completa (dosis para vacunación de becerras) de 10 mil millones de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) por vía subcutánea, no produce lesiones patológicas ni crecimiento bacteriológico en órganos reproductivos y ganglios linfáticos, así como tampoco excreción de la misma por vía seminal.

Estos resultados demuestran que la cepa RB51 tiene muy bajo nivel de excreción a través del semen, indicativo de su rápida eliminación del organismo por la respuesta inmune del animal, como había sido señalado anteriormente por Edmonds y col. [9], luego de la inoculación de toros adultos con cepa RB51.

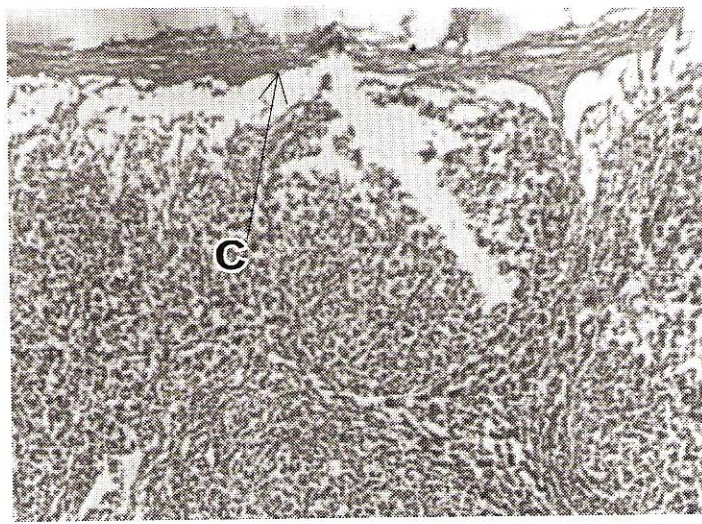
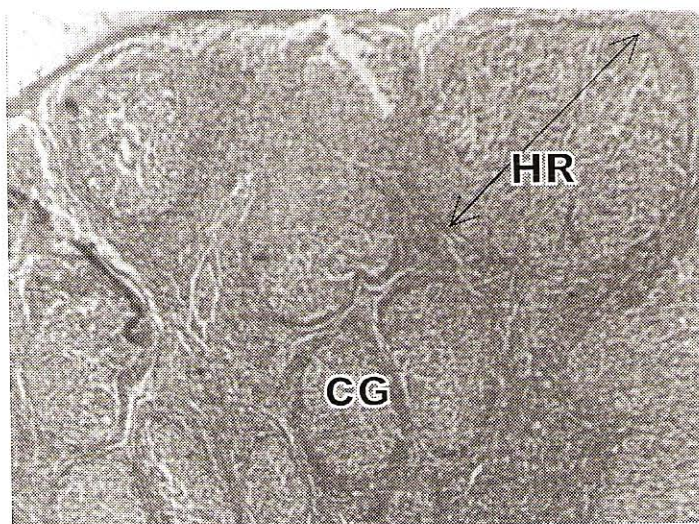
La rápida eliminación de la cepa RB51 del organismo ha sido también observada luego de la inoculación de vacas y novillas preñadas hasta 6 meses de gestación, con una dosis reducida de mil millones de UFC/mL [20], o con una dosis completa de 10 a 34 mil millones de UFC/mL por vía subcutánea

TABLA I  
GANGLIOS LINFÁTICOS. HALLAZGOS  
HISTOPATOLÓGICOS EN TOROS VACUNADOS Y NO  
VACUNADOS CON CEPA RB51 DE *B. abortus*

Grupo	Hiperplasia Reticular			
	Sí	%	No	%
Vacunado	8*	40,0	2	10,0
Control	1	05,0	9	45,0
Total	9	45,0	11	55,0

\*Diferencias significativas  $P < 0,05$ .  $RR=8$ .

Fuente: Propia.



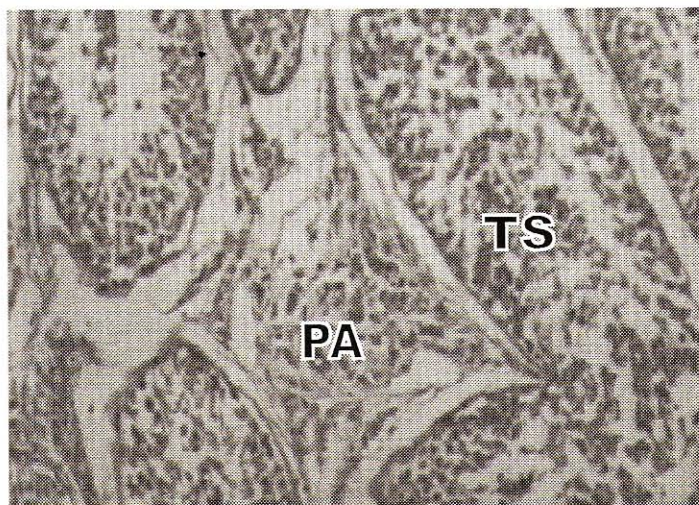
FIGURAS 1 y 2. MICROFOTOGRAFÍA DE LINFONÓDULOS ILIACOS (H&E 160X y 200X). CG. CENTROS GERMINATIVOS. HR. HIPERPLASIA RETICULAR C. CATARRO SINUSAL.



**TABLA II**  
**TESTÍCULOS. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS**  
**EN TOROS VACUNADOS Y NO VACUNADOS CON CEPA**  
**RB51 DE *B. abortus***

Grupo	Periarteriolitis			
	Sí	%	No	%
Vacunado	5	25,0	5	25,0
Control	2	10,0	8	40,0
Total	7	35,0	13	65,0

Fuente: Propia.

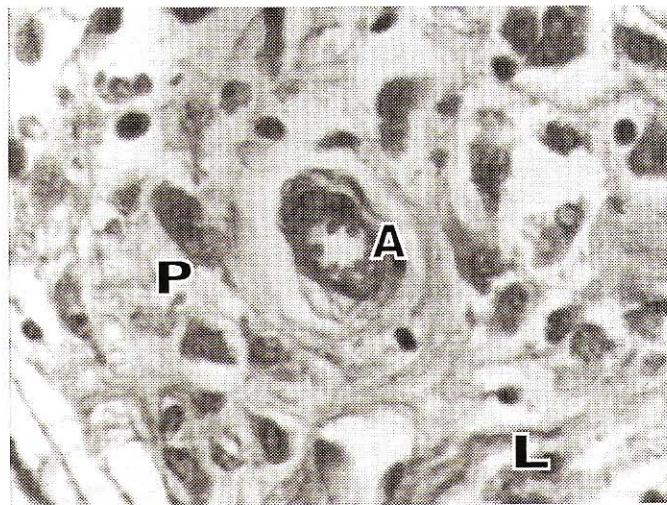


**TABLA III**  
**EPIDÍDIMO. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS**  
**EN TOROS VACUNADOS Y NO VACUNADOS CON CEPA**  
**RB51 DE *B. Abortus***

Grupo	Fibrosis de Epidídimo			
	Sí	%	No	%
Vacunado	7	35,0 NS	3	15,0
Control	8	40,0 NS	2	10,0
Total	15	75,0	5	25,0

NS: Diferencias estadísticamente no significativas.

Fuente propia.

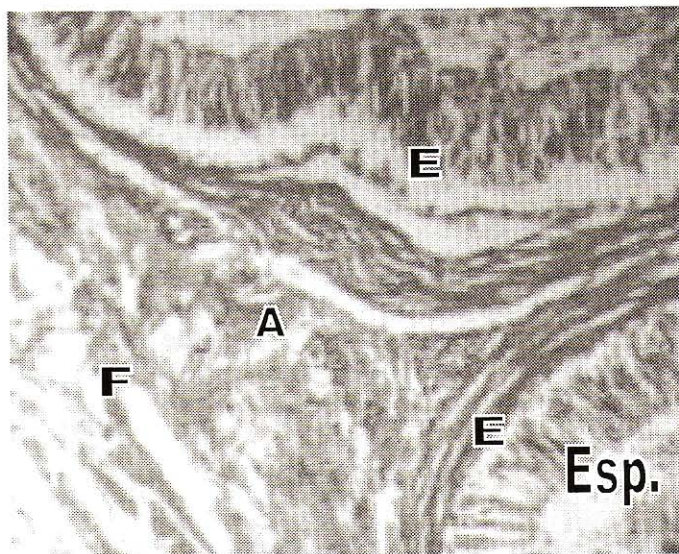


**FIGURAS 3 y 4. MICROFOTOGRAFÍA DE TESTÍCULO (H&E 160X y 400X). TS. TÚBULO SEMINÍFERO NORMAL. PA. PERIARTERIOLOSIS LEVE. A. ARTERIOLA, P. PLASMOCITOS, L. LINFOCITO.**

[24]. Más aún, luego de la inoculación experimental con una dosis completa de cepa RB51 por vía intravenosa en novillas preñadas (6 meses de gestación), sólo se obtuvieron aislamientos positivos de la cepa en sangre periférica hasta un máximo de 6 días postinoculación en 8 de 10 animales inoculados y en leche sólo en 1 de 10 novillas hasta 8 semanas postinoculación [19].

En comparación con la cepa RB51, la vacunación de hembras adultas con dosis reducida de cepa 19, produce una excreción prolongada de la cepa a través de la leche por un período de hasta 13 meses posteriores a la vacunación, en aproximadamente el 2% de los animales vacunados [10], no ha demostrado ser protectora contra la inoculación experimental de la cepa patógena [5], y puede inducir la ocurrencia de placentitis y aborto con crecimiento de la cepa 19 en útero, placenta y órganos fetales en hembras preñadas [19]. En toros, la cepa 19 no puede ser usada puesto que produce una prolongada excreción a través del semen e induce orquitis y epididimitis [17].

En cuanto a la evaluación microscópica del eyaculado no se observaron diferencias estadísticamente significativas



**FIGURA 5. MICROFOTOGRAFÍA DE EPIDÍDIMO (H&E 160X). A. ARTERIOLA F. FIBROSIS E. EPITELIO NORMAL. Esp. ESPERMATOZOIDES.**



para las mediciones de motilidad masal, motilidad progresiva (individual) o porcentaje de atipias espermáticas entre animales vacunados y no vacunados, lo cual concuerda con el hecho de que en el estudio histopatológico de testículo y epidídimo, no se apreciaron alteraciones sobre el epitelio germinativo de los túbulos seminíferos a nivel testicular ni en el epitelio epididimario que pudiesen afectar el proceso de formación, maduración y almacenamiento de espermatozoides [12].

El estudio histopatológico de ganglios linfáticos ilíacos e inguinales, demostró que un alto porcentaje de animales (45%) mostraron una hiperplasia reticular. Fueron observadas diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre animales vacunados y no vacunados, indicativo de una asociación con la vacunación y un riesgo relativo alto (RR=8), que demuestra la fuerza de esta asociación, indicativo de que los animales vacunados tienen ocho veces más probabilidades de presentar esta hiperplasia reticular ganglionar que el grupo control.

La hiperplasia reticular encontrada se caracterizó por un incremento de células linfocíticas y macrófagos a nivel de los centros germinativos de Fleming, con signos de ligera inflamación subcapsular, pero sin la presencia de infiltrados de células polimorfonucleares (PMN). Estas características histopatológicas son compatibles con aquellas observadas por una constante estimulación de las células linfocíticas a nivel de ganglios linfáticos por antígenos vacunales presentados por macrófagos y células dendríticas, en especial cuando estos antígenos proceden de una cepa viva como la cepa RB51, la cual puede mantener una antigenimia constante en el organismo hasta su completa eliminación por activación de la respuesta celular [13].

A pesar de que la cepa no fue aislada en cultivos bacteriológicos de semen y órganos reproductivos, existen indicios de que la misma puede permanecer en ganglios linfáticos por un período de 10 a 12 semanas, momento en el cual se obtiene el pico de respuesta inmunológica celular capaz de eliminarla en forma definitiva, dejando sólo la memoria inmunológica, como ha sido observado luego de la inoculación de becerros, novillas y vacas adultas [2, 3].

Hasta el presente no se tienen reportes de la persistencia de la cepa RB51 en ganglios, luego de la vacunación de toros adultos. En el presente trabajo no se obtuvieron muestras de ganglios cervicales superficiales sino, sólo de ganglios ilíacos e inguinales, procesándose los mismos en forma de macedado junto con testículos y epidídimos para el estudio bacteriológico, siguiendo el mismo método utilizado por Edmonds y col. [9]. Sin embargo, la presencia de una hiperplasia reticular observada a los 90 días postvacunación (12 semanas) en el grupo vacunado, demostró que la cepa RB51 se mantuvo en ganglios linfáticos promoviendo una constante estimulación de la respuesta inmune por lo menos durante este período postvacunación.

En el estudio histopatológico de testículos y epidídimos, no se observaron evidencias significativas de alteraciones pa-

tológicas que fuesen debidas a la vacunación, ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo vacunado y control para los diferentes hallazgos histopatológicos. Estos resultados concuerdan también con lo observado por Edmonds y col. [9]. Sin embargo, a pesar de que no se observaron lesiones patológicas, se pudo notar que en el grupo vacunado se presentó un mayor porcentaje de animales con infiltrados linfoplasmocitarios a nivel periarteriolar en testículos.

La presencia de un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario periarteriolar a nivel de testículo puede ser indicativo de la colonización del tejido testicular y epididimario por la cepa vacunal, lo que demuestra su tropismo por estos tejidos como ha sido señalado por Palmer y col. [19], quienes observaron, luego de la inoculación experimental intravenosa de la cepa en novillas preñadas, la presencia de infiltrados de polimorfonucleares (PMN) abundantes, macrófagos, plasmocitos y linfocitos, principalmente del tipo T CD4+ formando parte de los infiltrados inflamatorios. Los becerros nacidos de estas novillas no desarrollaron lesiones microscópicas significativas, observándose sólo leves infiltrados linfocíticos periarteriolares.

Aun cuando la cepa RB51 posee tropismo por el tejido del aparato reproductor y puede causar un leve periarteriolitis producto de la respuesta inmune; esta situación no causa alteraciones sobre el epitelio germinativo de los túbulos seminíferos, ya que el estudio histopatológico demostró que las membranas basales de los epitelios se encontraban intactas y tanto las células epiteliales de sostén (Sertoli) como los espermatozoides en sus diferentes estados de desarrollo, no mostraron signos degenerativos o inflamatorios que pudiesen afectar el proceso normal de la espermatogénesis.

A nivel epididimario, aun cuando se observó alto porcentaje de fibrosis, la misma se observó en los grupos vacunados y control, lo cual indica que ésta ocurrió por otras causas diferentes a la vacuna. De igual manera, se observaron intactos los epitelios del conducto epididimario, presentando en su mayoría buena actividad espermática. Esto indica que el proceso de maduración y almacenamiento de espermatozoides no fue tampoco alterado por efecto de la vacuna.

## CONCLUSIONES

La vacunación de toros adultos a una dosis única de 10 mil millones UFC/mL de la cepa RB51 de *Brucella abortus*: no produce excreción de la cepa a través del semen ni replicación en órganos genitales a los 35, 70 y 90 días postvacunación; no genera alteraciones en la calidad espermática (motilidad masal, motilidad progresiva y atipias espermáticas) que comprometan la fertilidad de los animales; no produce orquitis y/o epididimitis detectables clínica o histopatológicamente pero puede inducir un leve infiltrado de células linfoplasmocitarias periarteriolares a nivel de testículo sin alteración del epitelio germinativo, lo cual es parte de la estimulación de la respuesta inmune.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BLOOD, D. C., HENDERSON, J. A., RADOSTITIS, O.M. Brucellosis. En: **Medicina Veterinaria**. 7ma. edición. Editorial Interamericana. México: 729-735. 1992.
- [2] CHEVILLE, N. F., JENSEN, A. E. HALLING, S. M., TATUM, F. M., MORFITT, D.C., HENNAGER, S., FRIEDRICH, W. M., SCHURIG, G. G. Bacterial survival, lymph node changes, and immunologic responses of cattle vaccinated with estándar and mutant strains of *Brucella abortus*. **Am. J. Vet. Res.** 53(10): 1881-1888. 1992.
- [3] CHEVILLE, N., STEVENS, M.G., JENSEN, A. E., TATUM, F.M., HALLING, S. M. Immune responses and protection against infection and abortion in cattle experimentally vaccinated with mutant strains of *Brucella abortus*. **Am. J. Vet. Res.** 54(10): 1591-1597. 1993.
- [4] CONTRERAS, J. A. Brucellosis. **Enfermedades de los Bovinos: Diagnóstico, Tratamiento y Control**. Editado por Contreras, J. A. 2da. Edición. Barquisimeto. Venezuela: 475-487. 2000.
- [5] CRAWFORD, R. P., ADAMS, L. G., RICHARDSON, B. E. Effect of dose of *Brucella abortus* strain 19 in yearling heifers on the relative risk of developing brucellosis from challenge exposure with strain 2308. **Am. J. Vet. Res.**, 51(11): 1837-1840. 1990.
- [6] DANIEL, W. W. **Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud**. Editorial Limusa México: 280-286, 345-372, 639-693. 1997.
- [7] DI FIORE, M. S. **Diagnóstico histológico**. Editorial El Ateneo. Buenos Aires: 79-112. 1984.
- [8] EAGLESOME, M. D., GARCIA, M. M. Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. Part I. *Brucella abortus*, *Leptospira*, *Campylobacter fetus*, and *trichomonas foetus*. **Veterinary Bulletin**, 62(8): 743-775. 1992.
- [9] EDMOND, M. D., SCHURIG, G. G., SAMARTINO, L. E., HPHYT, P. G., WALKER, J. V., HAGIUS, S. D., ELZER, P. H. Biosafety of *Brucella abortus* strain RB51 for vaccination of mature bulls and pregnant heifers. **Am. J. Vet. Res.** 60(6): 722-725. 1999.
- [10] HITOS, F., GARCIA, S., ANGULO, G. Aislamiento de *Brucella abortus* biotipos 1, 2, 4, 7 y 9, a partir de muestras de leche procedentes de bovinos Holstein adultos revacunados con dosis reducida de la cepa 19 y su relación con la prueba de fijación de complemento. **Vet. Mex.** 14: 35-38. 1983.
- [11] HOPKINS, F. M., SPPLITER, J. C. The new society for theriogenology breeding soundness evaluation system. **Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice** 13(2): 283-294. 1997.
- [12] JONHSON, W. H. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. **Veterinary Clinics of North América: Food Animal Practice** 13(2): 255-282. 1997.
- [13] JUBB, K. V. F., KENNEDY, P. C., PALMER, Brucellosis in cattle caused by *Brucella abortus*. **Pathology of Domestic Animals**. 3<sup>rd</sup> edition. Vol. III. Academic Press, Inc: 346-347, 432-434. 1985.
- [14] LARSON, L. Examination of the reproductive system of the bull. **Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive diseases in Small and Large Animals**. Edited by Morrow, D. A., Saunders Company. USA:101-116. 1986.
- [15] LORD, V., SCHURIG, G., CHERWONOGRODZKY, J., MARCANO, M., MELENDEZ, G. Field study of vaccination of cattle with *Brucella abortus* strains RB51 and 19 under high and low disease prevalence. **Am. J. Vet. Res.** 59(8): 1016-1020. 1998.
- [16] MEADOR, V.P., TABATABAI, L.B., HAGEMOSER, W.A., DEYOE, B.L. Identification of *Brucella abortus* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues of cows, goats and mice with an avidin-biotin-peroxidase complex immunoenzymatic staining technique. **Am. J. Vet. Res.** 47(10): 2147-2150. 1986.
- [17] NICOLETTI, P. Brucellosis. **Current Veterinary Therapy. Food Animal Practice**. Edited by Howard, J., W. B. Saunders Company: 551-555. 1993.
- [18] OLSEN, S. Available vaccines for the control of brucellosis in animals. **Memorias de la reunión de consulta de expertos de la OPS / OMS sobre vacunas y estrategias de vacunación en los programas de control / erradicación de la brucelosis**. Santiago de Chile 16 al 18 de Noviembre: 30-33. 1999.
- [19] PALMER, M., CHEVILLE, N., JENSEN, A. Experimental infection of pregnant cattle with the vaccine candidate *Brucella abortus* strain RB51: Patologic, bacteriologic and serologic findings. **Vet. Pathol.** 33: 682-691. 1996.
- [20] PALMER, M. V., STEVEN C. O., CHEVILLE, N. F. Safety and immunogenicity of *Brucella abortus* strain RB51 vaccine in pregnant cattle. **Am. J. Vet. Res.** 58(5): 472-477. 1997.
- [21] PIONTKOSWSKY, M. *Brucella abortus* vaccine strain RB-51 live culture. **Summary reports of Colorado Serum Company**. USA: 1-80. 1998.
- [22] ROOP, R. M., JEFFERS, G., BAGCHI, T. WALKER, J., ENRIGHT, F. M. Experimental infection of goats fetuses in utero with a stable, rough mutant of *Brucella abortus*. **Res. of Vet. Sci.** 51 (1991): 123-127. 1991.
- [23] RUSSELL, W. Brucellosis. **JAVMA**. 195(5): 595-597. 1989.

- [24] SAMARTINO, L. E., SALUSTINO, E., GREGORET, R. Evaluación de la vacuna RB51 de *Brucella abortus* en hembras bovinas preñadas. **Veterinaria Argentina**, XVI (152): 2-8.1999.
- [25] SHCURIG, G. G., ROOP, R. M., BAGCHI, T., BOYLE, S., BUHRMAN, D and SRIRANGANATHAN, N. Biological properties of RB51, a stable rough strain of *Brucella abortus*. **Veterinary Microbiology**, 28: 171-188. 1991.
- [26] SCHURIG, G. Erradicación de la brucelosis y características principales de la vacuna *Brucella abortus* cepa RB51. **Memorias del Simposio Internacional de Brucelosis**. Maracay, Venezuela, 26 al 27 de Mayo: 27-42. 1999.
- [27] TOBIAS, L., SCHURIG, G. G., CORDES, D. O. Comparative behaviour of *Brucella abortus* strain 19 and RB51 in pregnant mouse. **Res. of Vet. Sci.** 53: 179-183. 1992.
- [28] URDANETA, A., MADRID-BURY, N., RODRÍGUEZ, J. R., ARANGUREN, A., GONZÁLEZ-STAGNARO, C., CASTEJÓN, O. Histopatología y morfometría de testículos en toros mestizos 5/8 Holstein y 5/8 Pardo Suizo a los 24 meses de edad. **Revista Científica FCV-LUZ**, VIII (2): 163-176. 1998.