

CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA (P4) EN HEMBRAS OVINAS GESTANTES ESTABULADAS REACCIONANTES A *Trypanosoma vivax*

Plasmatic Progesterone Concentration (P4) in Pregnant Ewes
reacting to *Trypanosoma vivax*

Noris Roa A!, Rita Tamasaukas², Claudio Fuenmayor¹, Lina Soler¹, Ramón Ordoñez¹ y Aixa Aguirre²

¹ Instituto de Investigaciones Zootécnicas, CENIAP-FONAIAP, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela

E-mail: njroa@reacciun.ve / zeus.ivic.ve; http://www.cbb.ivic.ve/simbiosis/roa.html.

² Universidad Rómulo Gallegos, San Juan de los Morros, Edo. Guárico, Venezuela. E-mail: rtamasa@reacciun.ve

RESUMEN

Se determinaron las concentraciones de progesterona plasmática (P4) en 19 hembras ovinas al momento del servicio, durante la gestación y primera semana post parto, pertenecientes a la unidad de ovinos del Instituto de Investigaciones Zootécnicas del CENIAP-FONAIAP, Maracay, estado Aragua, Venezuela para evaluar su respuesta reproductiva, mediante la técnica inmunoenzimática (ELISA), siendo reaccionantes al *Trypanosoma vivax*. Las concentraciones promedio de P4 para cada uno de los días del muestreo no presentaron diferencia significativa ($P > 0,05$), observándose valores mínimos de 0,5 ng/mL al momento del celo y máximos de 25 ng/mL en plena etapa gestacional. Los valores promedios oscilaron entre 4,89 ng/mL y 18,8 ng/mL. El análisis de regresión lineal usado para verificar el grado de predicción de las concentraciones de P4 los días del muestreo, demostró la siguiente ecuación: $\bar{Y} = 15,479 + (-0,0742)X$. La tasa de preñez del lote de trabajo fue de 95% diagnosticada a través de las concentraciones de P4 a los 10 días post servicio, lo que favoreció la separación de estos animales en preñados o vacíos. Se utilizó un periodo de monta natural controlada de cinco días con un macho, logrando la concentración sincrónica de los celos y el servicio. Ocurrieron 10 partos gemelares, seis individuales y uno triple, dos ovejas no parieron por posible reabsorción embrionaria. Se obtuvieron veinte corderos machos y nueve hembras. La curva general de P4 resultó ser la típica para ovejas gestantes. La incidencia del *Trypanosoma vivax* en estos animales fue alta, determinada con las técnicas de la Capa Blanca Cuantitativa (QBC[®]) (43,7%) e Inmunofluorescencia Indi-

recta (IFI) con un valor de 32,6%. La infección parasitaria fue endémica con picos intermitentes, no detectándose correlación significativa entre la incidencia del *T. vivax* y la respuesta reproductiva obtenida, a pesar de la tendencia a observar concentraciones menores de P4 en los animales infectados y a las dos ovejas que perdieron el producto de la preñez. Se recomienda seguir el estudio para mejorar el manejo del celo y el servicio relacionado con la presencia del macho y el efecto de la ttrypanosomiasis natural sobre la eficiencia reproductiva a través de la respuesta hormonal.

Palabras clave: Ovinos, progesterona, ELISA, tasa de preñez, oveja, *Trypanosoma vivax*.

ABSTRACT

Plasmatic progesterone (P4) concentrations were determined in 19 ewes at service, during the gestation and first week after parturition in an experimental flock, located at the sheep unit of the Livestock Research Institute of CENIAP-FONAIAP, Maracay, Aragua state, Venezuela, to evaluate the reproductive hormonal response using the enzyme immunoassay (ELISA), being reactionary to the *Trypanosoma vivax*. The mean concentrations of P4 for each one of the days of the sampling did not differ ($P > 0.05$) among them, observing the minimum values of 0.5 ng/mL at the moment of the oestrous and 25 ng/mL maximum in full pregnancy stage. The mean values was between 4.89 ng/mL and 18.8 ng/mL. The lineal regression analysis demonstrated the following equation $\bar{Y} = 15.479 + (-0.0742)X$. The pregnancy rate was of 95% being diagnosed precociously by P4 with ELISA's technique, ten days post service, which helped the separation in pregnant and open animals. The ewes were bred during five days with a ram, this fa-

vored the oestrus and the service concentration. There were ten double lambs, six sails and triple one, **two** ewes didn't give **because embryonic** absorption was **possible**. The general P4 curve obtained, was like the characteristic for pregnant ewes. The *Trypanosoma vivax* **incidence** was high when measured with Quantitative **Buffy Coat (QBC[®])** (43.7%) and by **Immunofluorescence Indirect (IFI)** (32.6%) techniques, and the *Trypanosoma vivax* infection was endemic with intermitent peaks, there was not significant correlation **between** *T. vivax* incidence and reproductive response, although **tendence** to obtain P4 low **levels** in infected ewes and the lost of **two** pregnancies. It is recommended to **follow** the study to improve the handling of the heat and service related with the male's **presence** and the natural Trypanosomiasis effect on the reproductive **efficiency** through the hormonal answer.

Key words: Sheep, progesterone, ELISA, pregnancy rate, ewe, *Trypanosoma vivax*.

INTRODUCCIÓN

El sector productivo pecuario ovino siente la necesidad de hacer más eficiente su producción, lo que se puede lograr cuando realmente la eficiencia reproductiva sea adecuada, esto se puede conocer midiendo los índices reproductivos, como por ejemplo, la tasa de preñez de un rebaño, observándose así si la unidad de producción es óptima o eficiente. El manejo reproductivo del rebaño ovino en Venezuela no **brinda** índices satisfactorios de producción, por ello existe la necesidad de investigar factores que afectan esta producción [1, 5]. Las investigaciones realizadas en el exterior del país, basadas en la medición y caracterización de periles hormonales específicos han ayudado a diagnosticar problemas reproductivos y proveen una herramienta muy importante para el conocimiento y solución de este tipo de problemática [12].

Una de las técnicas propuestas. sugerida como un método rápido y altamente sensible, es la determinación de **Progesterona (P4)** en plasma en ovejas [1, 6]. Esta medición ayuda a evaluar efectivamente la P4 y permite el diagnóstico precoz de la preñez con una seguridad de 90% a los 17-28 días de gestación [7], relacionándose con la tasa de preñez. Asimismo, el uso del ultrasonido es una técnica de diagnóstico precoz de preñez [7].

Mr a aplicación potencial para la medición de concentraciones de P4, es la detección de **fetos** múltiples en ovejas [6]. El desarrollo de explotaciones intensivas de producción de ovinos, demanda una prueba que permita la selección de ovejas con múltiples **fetos**. Gadsby y col. [6] indican que los niveles de P4 periféricos son significativamente más altos en ovejas con mellizos, que en ovejas con un solo feto, donde las concentraciones plasmáticas de P4 están directamente relacionadas con el tamaño de la camada, lo que puede ser usado, no sólo para diagnosticar preñez sino también predecir tamaño de

la camada. Este tipo de resultado puede ser comparado con los resultados obtenidos por ultrasonido, y sirve de parámetro comparativo determinando así, un diagnóstico precoz de la preñez y el número de **fetos** en estas especies.

Asimismo, dada la alta prevalencia del *Trypanosoma vivax* en rebaños ovinos en Venezuela, tanto del sur del estado Aragua, como del noroeste del estado Guárico [14, 15, 16] pudiera estar afectada la eficiencia reproductiva de los rebaños, alterando las concentraciones de progesterona, entre otros posibles efectos [3, 4, 8, 9, 10, 12].

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en ovejas de la unidad de ovinos del Instituto de Investigaciones Zootécnicas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP), Maracay, estado Aragua, Venezuela, ubicada a 452 m.s.n.m., con una temperatura media de 28°C, humedad relativa de 68% y precipitaciones promedio de 750 mm. Se utilizaron 19 hembras ovinas de raza West African entre 4 a 5 años de edad, al momento del servicio con buena condición corporal y buen estado de salud, elegidas al azar del rebaño total, manteniéndose estabuladas. Los muestreos sanguíneos y diagnósticos de laboratorio se realizaron al momento del celo, post servicio y dos veces mensual durante la gestación hasta el parto. La muestra de sangre se obtuvo de la vena yugular en tubos con EDTA (6 mL), obteniéndose el plasma **sanguíneo** luego de centrifugar a 3.000 r.p.m. por 15 min, luego se congeló a -20°C, hasta su procesamiento en el laboratorio. La determinación de progesterona (**P4**), se realizó por el método diagnóstico inmunoenzimático (ELISA) [11]. Para determinar la incidencia de *Trypanosoma vivax*, se utilizaron las técnicas de Capa Blanca Cuantitativa (**QBC[®]**) en sangre completa e **Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)** en plasma [14, 15, 16], durante los mismos momentos de los muestreos para P4. Una vez obtenidas las concentraciones de P4 mediante la curva de determinación, y los diagnósticos de *T. vivax* se procedieron a analizar los datos por métodos estadísticos. El análisis estadístico consistió en correlaciones y regresiones [13].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones promedio de P4 para cada uno de los días del muestreo no presentaron diferencia significativa (**P > 0,05**) entre ellas, observándose valores mínimos de 0,5 ng/mL al momento del celo y 25 ng/mL máximo en plena etapa gestacional. Los valores promedios estuvieron dentro del rango 4,89 ng/mL y 18,8 ng/mL. El análisis de regresión lineal usado para verificar el grado de predicción de las concentraciones de P4 los días del muestreo, demostró la siguiente ecuación $Y=15,479+(-0,0742)X$. Asimismo se **observó** baja correlación entre el día del muestreo y la concentración de P4

presentada en ese momento ($r=0,27$). La tasa de preñez del lote de trabajo fue de 95%, diagnosticándose precozmente por medición de P4 mediante la técnica de ELISA, diez días post servicio, lo que favoreció el manejo de estos animales preñados o vacíos, ya que en las ovejas, la progesterona juega un papel muy importante en el ciclo reproductivo al ser secretada casi exclusivamente por el cuerpo lúteo según Karsch y col. [8], deduciéndose que un incremento significativo de su concentración puede ser indicativo de preñez.

Se utilizó un período de monta natural controlada de cinco días con un macho, lo que favoreció la concentración sincrónica de los celos y el servicio. Ocurrieron diez partos gemelares, seis individuales y uno triple, hubo dos ovejas que no parieron, luego de diagnosticarlas preñadas a los 10 días post servicio por medición de P4, indicando la posibilidad de que haya ocurrido reabsorción embrionaria. Se obtuvo veinte corderos machos y nueve hembras. La curva general de P4 fue la típica para hembras gestantes, FIG. 1.

Los resultados para *Trypanosoma vivax* revelaron que, de un total de 183 muestras, 95 fueron positivas por QBC y 70 por IFI, para una incidencia de 51,9% por QBC® y de 38,2% por IFI, confirmando una alta incidencia del parásito en este rebaño y categoría de animales (hembras preñadas) manifestándose la infección de manera endémica, con picos intermitentes de parasitemia durante el período de muestreo, sin embargo, los animales no presentaron manifestaciones clínicas evidentes de la enfermedad, pero sí fueron seroreaccionantes al parásito, indicando una posible tolerancia de los animales a la infección parasitaria, la presencia de un curso crónico asintomático de la infección o una baja patogenicidad del aislado de *Trypanosoma vivax*, similar a lo indicado por Tamasaukas [14], Maikaje y col. [6] y Desquesnes [6] con referencia a diferencias de susceptibilidad al parásito entre razas de ovinos y bovinos en África y América, entre otras.

El efecto, en este trabajo, de los animales reaccionantes al parásito, no fue determinante sobre la tasa de preñez, ya que no hubo correlación significativa entre los valores de incidencia de *Trypanosoma vivax* y la respuesta reproductiva en estos animales infectados en forma natural. Resultados que difieren de los reportados por Osaer y col. [10] quienes concluyeron en su trabajo que, el más pronunciado efecto negativo de la infección con *Trypanosoma congolense* fue sobre el establecimiento de la preñez. En tanto, Elhassan y col. [4] señalaron que de cinco ovejas infectadas con *Trypanosoma vivax* en el primer trimestre de la gestación, tres murieron sin abortar y dos abortaron, mientras que de cinco ovejas infectadas en el tercer trimestre de la preñez, dos murieron sin abortar, una parió prematuramente y tres parieron a término, aunque ninguno de los neonatos fue viable; similares hallazgos a los Edeghere y col. [3] quienes indicaron que la infección con *Trypanosoma brucei* brucei en diferentes estadios de la gestación, resultó en un 16% de abortos, 100% de mortalidad y 33,3% de neonatos no viables.

Aunque hubo una tendencia a la disminución de los niveles de progesterona en los animales infectados, este efecto no fue estadísticamente significativo, coincidiendo con los resultados obtenidos por Osaer y col. [10].

CONCLUSIONES

La determinación de los valores de progesterona por la técnica ELISA permitió el diagnóstico precoz de la preñez (10 días post servicio), con una tasa de preñez del 95%.

La infección por *Trypanosoma vivax* reveló un carácter endémico, con altos valores de incidencia, manteniéndose los animales, reaccionantes de forma intermitente durante todo el experimento. No hubo correlación significativa entre la incidencia del parásito y la respuesta reproductiva de las hembras gestantes infectadas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar el estudio, midiendo los efectos y las respuestas reproductivas endocrinas como histológicas, con infecciones experimentales y naturales de *Trypanosoma vivax*, bien sea relacionados al anestro, abortos y reabsorción embrionaria. Asimismo, se podrían seleccionar ovejas con mayor producción de P4, lo que indicará mayor número de fetos y evaluar el efecto nutrición sobre la eficiencia reproductiva a través de la respuesta hormonal.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento por el financiamiento del proyecto al Instituto de Investigaciones Zootécnicas del CENIAP-FONAIAP, FUNDACITE Aragua (DLAG0039), a la Fundación Internacional de la Ciencia (IFS B/2223-1) y Universidad Rómulo Gallegos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CORREA, J. Regulación hormonal del ciclo estral en ruminantes. Resumen. I Curso Internacional de Transferencia de Embriones Bovinos. Universidad Austral de Chile. 01 al 05 de Agosto. JICA.:203 - 214. 1992.
- [2] DESQUESNES, M. Les trypanosomoses du bétail en Amérique Latine, étude spéciale dans le Plateau des Guyanes. Université du Droit et de La Santé de Lille. France. (These Doctorat) 272 pp. 1997.
- [3] EDEGHERE, H; ELHASSAN, E.; ABENGA, J.; OSUE, H.O.; LAWANI, F.A.; FALOPE. O. Effects of infection with *Trypanosoma brucei brucei* on different trimesters of pregnancy in ewes. *Vet. Parasitol.* 43(3):203-209. 1992.

- [4] ELHASSAN, E.; IKEDE, B.O.; ADEYEMO, O. Trypanosomiasis and reproduction: II. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on pregnancy and post-partum cyclicity in ewes. *Trop. Animal Health Prod.* **27**(1):9-14. 1995.
- [5] ESPINOZA, E. Evaluación clínica, parasitológica y serológica de bovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. (Tesis de Grado) Postgrado en Medicina Veterinaria:221 pp.1988.
- [6] GADSBY, J.E.; HEAP, R.B. Diagnosis of pregnancy and of the number of foetus in sheep from plasma progesterone concentrations. *Vet. Record.* **3**:339-342. 1972.
- [7] GONZÁLEZ-STAGNARO, C. Diagnóstico de gestación en ovejas y cabras tropicales. *Rev. Científica Fac. Cs. Vet., LUZ.* III (3):249-267. 1993.
- [8] KARSCH, F.J.; FOSTER, D.L.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; PETER, G.K. Control of the preovulatory endocrine events in the ewe: interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone. *Endocrinology.* **105**(2):421-426. 1979.
- [9] MAIKAJE, D.B.; SANNUSI, A.; KYEWALABYE, E.K.; SAROR, D.I. The course of experimental *Trypanosoma vivax* infection in USA sheep. *Vet. Parasitol.* **38**(4):267-274.
- [10] OSAER, S.; GOOSSENS, B.; JEFFCOATE, I.; JAITNER, J.; KORA, S.; HOLEMS, P. Effects of *Trypanosoma congolense* and nutritional supplements on establishment and outcome of pregnancy in trypanotolerant Djallonke ewes. *Anim. Reprod. Sci.* **51**(2):97-109. 1998.
- [11] ROA, N.; LINARES, T.; BARRIOS, D.; RAMÍREZ de R., M.; TAMASAUKAS, R. Determinación de progesterona plasmática por el método de ELISA en receptoras de embriones bovinos. *Rev. Científica. Fac. Cs. Vet., LUZ.* VII. (2): 133-138. 1997.
- [12] SEKONI, V.O. Reproductive disorders caused by animal trypanosomiasis: a review. *Theriogenology.* **42**:557-570. 1994.
- [13] STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. Bioestadística: principios y procedimientos. McGraw Hill. Ed. México. 2ª Edición:1-622. 1988.
- [14] TAMASAUKAS, R. Estudio general de la trypanosomiasis bovina. Universidad Rómulo Gallegos, Venezuela. (Trabajo de Ascenso):242 pp. 1995.
- [15] TAMASAUKAS, R.; ROA, N.; RUIZ, H.; RODRÍGUEZ, I.; BALDIZÁN, A.; ASO, P. Infecciones naturales con *Trypanosoma vivax* y otros hemoparásitos en bovinos del estado Guárico, Venezuela: análisis de valores hematológicos. Resúmenes del I Simposium Nacional de Hemoparásitos y sus Vectores. Universidad Simón Bolívar. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Venezuela. 1 al 2 de Octubre. (E12):65. 1998.
- [16] TAMASAUKAS, R.; ROA, N.; ASO, P.; RUÍZ, H.; AGUIRRE, A.; SOLER, L.; ORDÓÑEZ, R. Diagnóstico por QBC e IFI de *Trypanosoma vivax* en ovinos estabulados en un rebaño cerrado del estado Aragua, Venezuela. XLVIII Convención Anual AsoVAC. Universidad Rafael Bellososo Chacín (URBE). Maracaibo, Venezuela. 8 al 13 de Noviembre. Acta Científica Venezolana. 49. Supl. (2):337. 1998.